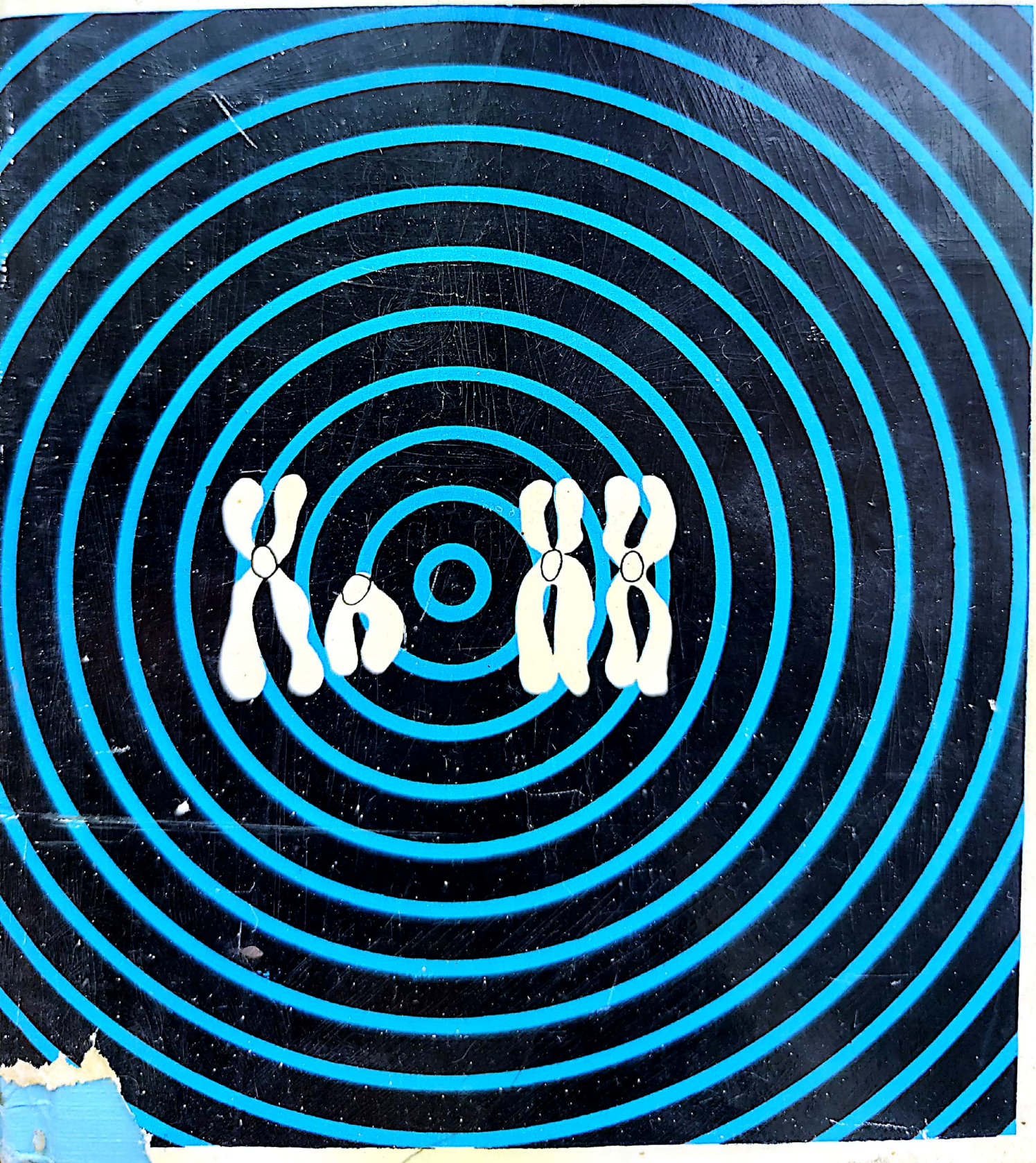
ŞT. M. MILCU • C. MAXIMILIAN

Genetica umană



Scanned with OKEN Scanner

Genetica umană

Genetica constituie una dintre cele mai spectaculoase realizări ale gîndirii contemporane. A apărut la începutul secolului nostru și numai în cîteva decenii a revoluționat întreaga biologie.

Ea ne-a apropiat de înțelegerea marilor fenomene ale vieții; ne-a explicat geneza întregii diversități a lumii vii.

Datorită geneticii am pătruns în misteriosul univers al eredității. Medicina modernă devine din ce în ce mai mult o genetică medicală, iar biologia se restructurează după principiile geneticii.

Numeroase științe care au ignorat ereditatea, ca de pildă pedagogia și psihologia, caută în genetică soluția multor probleme nerezolvate încă.

Cartea de față — prima de acest gen în literatura noastră științifică — își propune să prezinte medicilor și biologilor, dar nu numai lor, marile realizări ale geneticii actuale: genetica caracterelor normale și patologice, citogenetica, radiogenetica, farmacogenetica etc.

Cartea are meritul de a fi rezultatul unei colaborări, condiție indispensabilă pentru realizarea unor lucrări de certă valoare științifică.

Sîntem convinși că Genetica umană va marca o dată importantă în literatura noastră științifică.

Scanned with OKEN Scanner

Acad. ȘT. M. MILCU • C. MAXIMILIAN

Genetica umană

EDITURA ȘTIINȚIFICĂ • BUCUREȘTI, 1966

Scanned with OKEN Scanner

Tabla de materii

Prefață 7
C. MAXIMILIAN

Introducere 11
C. MAXIMILIAN

1. Aspecte din istoria geneticii umane 19
C. BONA ȘI M. S. DUMITRESCU

2. Bazele celulare ale eredității 36
C. BONA, M. S. DUMITRESCU, ȘI GR. GHYKA

3. Bazele moleculare ale eredității 65
GR. GHYKA

4. Conceptul de genă și evoluția lui 126
GR. GHYKA

5. Ereditatea citoplasmatică 146
M. S. DUMITRESCU

6. Mutațiile 161
C. MAXIMILIAN ȘI V. IONĂȘESCU

7. Bazele geneticii mendeliene 177
C. MAXIMILIAN

8. Ereditatea și mediul 212
C. MAXIMILIAN

9. Gemelologia 220
MARTA DUMITRESCU

10. Genetica caracterelor normale 242
B. IONESCU

11. Genetica diferențierii sexuale 263

Scanned with OKEN Scanner

ST. M. MILCU ŞI C. MAXIMILIAN

12. Citogenetica 284

ST. M. MILCU, C. MAXIMILIAN ŞI M. NICU

13. Radiogenetica 311

V. IONĂŞESCU

14. Farmacogenetică 336

C. BONA, M. S. DUMITRESCU ŞI A. SULICA

15. Imunogenetica 350

A. SULICA

16. Implicaţiile procesului de recunoaştere imunologică şi baza lor genetică 371

C. MAXIMILIAN

17. Ereditatea şi malformaţiile congenitale 380

ST. M. MILCU ŞI C. MAXIMILIAN

18. Genetica medicală 410

C. MAXIMILIAN

19. Selecţia naturală în patologie 452

GR. GHYKA ŞI C. MAXIMILIAN

20. Metodele de cercetare în genetica umană . . . 466

Scanned with OKEN Scanner

Prefață

Apariția *Geneticii umane* sub redacția noastră va surprinde foarte mulți cititori, cunoscută fiind specializarea noastră în endocrinologie. Fenomenul este totuși explicabil, pe deoparte prin importanța geneticii în endocrinologie, iar pe de altă parte prin interesul și frecventarea acestei discipline încă de la începuturile formației mele medicale și biologice. Lucrînd mulți ani, într-o primă perioadă, la fostul Institut de anatomie și embriologie al Facultății de Medicină sub conducerea prof. Fr. Rainer, am luat cunoștință de ansamblul problemelor de genetică, așa cum se puneau ele în deceniul al treilea al secolului al XX-lea și am asistat la primele tentative de cercetări experimentale cu șoareci colorați pentru studierea transmiterii unor caractere morfologice.

Într-o perioadă mai apropiată, am resimțit necesitatea investigărilor genetice în endocrinologia clinică, în care prof. C. I. Parhon a semnalizat existența factorilor morbizi ereditari în apariția unor endocrinopatii. În vechea clinică neurologică am fost martorul cercetărilor întreprinse într-o primă perioadă de Gh. Marinescu, și apoi de N. Ionescu-Sisești, în bolile nervoase ereditare. Prin înființarea Institutului de endocrinologie ni s-a oferit posibilitatea să organizăm investigarea genetică a bolilor endocrine, așa cum au văzut-o cu aproape trei decenii în urmă.

Rezultatele obținute la Laboratorul de genetică al acestui institut au impus unanim atenția asupra însemnătății patologiei genetice în apariția unui număr de boli endocrine. Disgeneziile gonadice constituie cel mai strălucit exemplu de endocrinopatii genetice.

La rîndul ei, endocrinologia are un rol important în evoluția potențialului genetic. Hormonii ne apar ca substanțe capabile să modifice adînc fenotipul și să realizeze discordanțe adînci între acesta și genotip. Ei se încadrează între factorii

Scanned with OKEN Scanner

realizatori ai caracterelor genetice prezente în ADN. Sînt ușor de imaginat largile posibilități pe care le oferă endocrinologia în rezolvarea numeroaselor probleme puse de controlul determinismului genetic al caracterelor normale sau patologice.

Rolul ce revine hormonilor și factorilor genetici în determinismul fenotipului, a dinamicii constituției, a patologiei de vîrstă, a psihismului, a longevității și îmbătrînirii justifică interesul endocrinologiei în genetică.

Este evident că, așa cum o arată monografia *Genetica umană*, genetica are rolul central și în restul medicinei moderne. Este greu de presupus o înțelegere corespunzătoare epocii noastre a biologiei și patologiei omului fără cunoștințe de genetică generală și umană.

Întrucît această relație are un interes doctrinar, este necesar să subliniem că nu poate fi concepută o genetică umană fără cunoașterea geneticii generale și a diverselor domenii care s-au desprins în decursul timpului prin specializare și au o directă legătură în biologia și patologia omului; ne referim îndeosebi la citogenetică, farmacogenetică, la teratologia congenitală etc.

Un loc tot atît de important pentru însușirea bazei teoretice și pentru continua dezvoltare a geneticii umane o are genetica generală prin domeniile ei de structură: substratul celular și molecular al eredității, conceptul de genă, mutațiile, ereditatea mendeliană, imunogenetica, etc.

Prezența capitolelor menționate în volumul de genetică umană oferă informarea de bază pentru înțelegerea fenomenelor proprii ale acestor domenii.

Dacă genetica generală are importanța arătată pentru genetica umană, nu mai puțin adevărată este relația inversă. Istoria geneticii ne arată cu prisosință că genetica medicală a adus contribuții de seamă la dezvoltarea geneticii generale.

Întreaga epocă premendeliană din secolele XVII, XVIII, XIX este bogată în observații și studii redevabile medicilor care au cules numeroase observații de patologie genetică. În medicină s-au pus în evidență rolul nefast al consanguinității în transmiterea unor caractere morbide și a unor boli grave, limitarea sexuală a patologiei ereditare, rolul eredității în apariția malformațiilor, existența familiilor cu mare încărcătură morbidă,

Scanned with OKEN Scanner

ideea eredității morbide și eugenia ca știință menită să o combată.

În epoca noastră clinica și genetica populațiilor umane continuă această tradiție, așa cum o arată valoroasa contribuție adusă de studiul patologiei diferențierii sexuale a omului și la cunoașterea acestui proces la nivelul biologiei generale. Izolarea disgeneziilor gonadice și citogenetica lor constituie unul dintre exemplele cele mai convingătoare.

Nu-i lipsită de interes reconsiderarea ce o impune la nivelul conceptului de unicitate biologică a omului descoperirea în clinica umană a mozaicului cromozomial, la nivelul diverselor organe și țesuturi. Ideea tradițională a unității genetice este astfel zguduită.

Un fenomen asemănător se realizează la nivelul legăturii obligatorii dintre echipamentul cromozomial XY, XX și fenotipul sexual masculin și feminin.

În viitor este de așteptat o clarificare, prin studiul populațiilor umane izolate și al biochimiei moleculare la nivelul patologiei umane, a unor noi aspecte genetice de interes general.

Volumul consacrat geneticii umane este opera unui colectiv de geneticieni care activează în diverse domenii ale biologiei și medicinei: endocrinologie, antropologie, neurologie și microbiologie. Toți sînt cunoscuți prin lucrările și activitatea lor teoretică și practică în genetica umană. Competența, devotamentul și entuziasmul de care au dat dovadă, angajîndu-se în redactarea unei dificile monografii, vor putea fi apreciate de cititori. Adeziunea lor la problematica geneticii se situează cu ani în urmă, într-o perioadă cînd o asemenea atitudine constituia prin ea însăși o înfruntare a dogmatismului care a frînat o lungă perioadă de timp progresul geneticii în țara noastră. Cei mai mulți sînt elevii și colaboratorii mei direcți. Aprecierea și afecțiunea noastră converg spre toți acești valoroși oameni de știință care, sper, vor aduce contribuția lor la dezvoltarea geneticii în general și a celei umane în special.

Structura monografiei indică foarte clar concepția care a generat-o. După o introducere scurtă, dar densă și cuprinză-

Scanned with OKEN Scanner

toare în care se expun etapele istorice și problematica geneticii pe plan mondial și național, economia lucrării se compartimentează într-o primă parte de genetică generală, în care sînt expuse cunoștințe de bază, și într-o secundă parte, care cuprinde domeniile geneticii umane. Expunerea materialului este complimentară. Lucrarea constituie un tot care trebuie consultat în ordinea lui firească.

Este o legitimă obligație și spontană adeziune la mulțumirile ce le adresăm Editurii Științifice, care editează această lucrare de genetică umană, ca primă apariție în țara noastră după 23 August 1944.

Sperăm, alături de colectivul redacțional al *Geneticii umane*, că lucrarea va fi primită cu interes, va fi consultată cu folos și va servi la o mai bună informare în genetica umană și la progresul acestei discipline în țara noastră.

Acad. ȘTEFAN MILCU

15 decembrie 1965

Scanned with OKEN Scanner

Introducere

Genetica este știința eredității. Această succintă formulare este aproape general admisă de biologia contemporană. Definirea eredității este însă mai puțin unitară. În spiritul geneticii clasice, prin ereditate se înțelege „reapariția la urmași a unor caractere ale înaintașilor"*. Ereditatea are astfel un caracter stabilizator, care asigură asemănarea descendenților cu părinții, care face legătura organică dintre generații.

Uneori se consideră că variabilitatea este un fenomen opus eredității. Această diferențiere a pornit de la premisa că variabilitatea constituie materia primă asupra căreia operează selecția naturală. În genetica modernă această distincție este mai puțin clară. L'Héritier definește ereditatea ca informația pe care o transportă mesajul viu. La rîndul ei, ereditatea dă mesajului propria sa specificitate.

Domeniul pe care îl acoperă genetica este deosebit de vast, de la cercetarea cauzelor care au dus la apariția vieții pînă la studiul evoluției. Cercetarea acestui domeniu a impus de la început împărțirea geneticii în mai multe ramuri fundamentale: genetica vegetală, genetica animală și genetica umană. Fiecare dintre aceste ramuri are metode de cercetare proprii.

O dată cu dezvoltarea geneticii au apărut o serie de noi ramuri, cu o tematică din ce în ce mai restrînsă: genetica moleculară, radiogenetica, citogenetica, farmacogenetica etc.

La începutul secolului nostru marea problemă a geneticii era de a analiza modul de transmitere al caracterelor. Se încrucișau plante și animale și se urmărea evoluția anumitor caractere de-a lungul generațiilor.

Mai tîrziu, în genetică a pătruns chimia biologică și din această fuziune s-a născut genetica moleculară. Ea marchează o etapă

---

* F. Mainx, *Foundation of Biology*, Univ. of Chicago Press, 1955.

Scanned with OKEN Scanner

de o remarcabilă importanţă pentru înţelegerea fenomenelor intime ale eredităţii. Genetica formală studia caracterele fenotipice, cromozomii şi genele, în măsura în care erau accesibile observaţiei directe. Genetica moleculară a pătruns adînc în structura celulei, pentru a urmări natura şi transmiterea informaţiei ereditare. Diferenţele individuale încep să fie studiate la nivel molecular.

Aceasta nu înseamnă că ştim totul. De la descifrarea procesului care asigură sinteza proteinelor pînă la formarea creierului sau a ochiului este un drum lung, plin de necunoscute.

Citogenetica ne-a dezvăluit universul cromozomial, radiogenetica ne-a dat posibilitatea să obţinem mutaţii şi să le folosim în agricultură şi zootehnie, iar farmacogenetica ne-a explicat cauzele răspunsului diferit al oamenilor la medicamente.

Noi ramuri ale geneticii îşi reclamă dreptul la independenţă. Cel mai bun exemplu îl constituie imunogenetica.

În prezent genetica ocupă locul central în biologie, exercitînd o influenţă profundă asupra tuturor disciplinelor care studiază omul. Ea a demonstrat că omul este un produs al interacţiunii dintre ereditate şi mediu. Dobzhansky spunea cîndva că tot ceea ce este omul, tot ceea ce face, tot ce i se întîmplă este în egală măsură condiţionat de ereditate şi de mediu. Toate caracterele umane normale şi patologice sînt condiţionate şi nu determinate genetic. Ereditatea nu determină în mod necesar un caracter, ci condiţionează o anumită normă de reacţie la mediu. În funcţie de mediu, un caracter normal va avea o anumită dezvoltare, iar un caracter patologic va apărea sau nu.

Această afirmaţie, susţinută încă la începutul secolului al XX-lea de Baur, constituie una dintre ideile fundamentale ale geneticii.

Genetica umană studiază omul ca rezultat al evoluţiei, iar evoluţia explică structura normală şi patologică a acestuia, variabilitatea individuală şi variabilitatea populaţiilor.

Omul a început să fie studiat cu mult înainte de apariţia geneticii. Antropologia, de pildă, a apărut şi s-a dezvoltat din necesitatea de a cunoaşte variabilitatea umană în timp şi spaţiu. De aceea, problemele pe care le-a abordat au fost limi-

Scanned with OKEN Scanner

tate: originea și evoluția omului, structura rasială a populațiilor vechi și contemporane, precum și răspîndirea geografică a caracterelor morfologice și fiziologice.

Decenii la rînd s-au căutat cu sîrguință și răbdare resturile oamenilor fosili, s-au măsurat și observat populații din toate colțurile lumii, s-au stabilit distribuția și frecvența caracterelor morfologice și, mai puțin, a celor fiziologice.

Materialul s-a acumulat continuu. Singura justificare a acestor cercetări era speranța că într-o zi ele vor lămuri variabilitatea umană. Speranțele au fost însă zadarnice. Metodele folosite de antropologie — observația, măsurătorile și rareori matematica — nu aveau o bază științifică. A inventaria nu înseamnă a explica. Pentru a explica variabilitatea, antropologia avea nevoie de un fundament științific.

Acest fapt i-a permis lui Hogben să remarce că „... biologia sistematică, în general, și antropologia fizică, în particular, și-au continuat drumul cu o seninătate netulburată de rezultatele investigațiilor experimentale. Aceasta din cauză că geneticienii s-au reținut de a comenta consecințele distrugătoare ale descoperirilor lor".

Încetul cu încetul însă, antropologii au trebuit să țină seama de rezultatele geneticii. În consecință, întreaga orientare a antropologiei a început să se schimbe. În antropologia modernă nu se mai acordă importanță răspîndirii geografice a unui caracter, frecvenței lui la o populație sau alta, la o țară sau alta, ci valorii lui adaptative.

Transformările pe care le-a suferit raseologia sînt și mai profunde. Foarte mult timp s-a crezut că fiecare individ are o anumită structură rasială, structură care explică întreaga diversitate umană. De aceea, decenii la rînd s-au creat nenumărate metode de „diagnostic rasial individual".

Genetica a arătat însă că aceste metode sînt complet eronate. Dacă antropologia vrea să studieze rasele, ea trebuie să o facă la nivelul populației și nu al individului. Dar acesta este un simplu punct de vedere. În genetica modernă se discută foarte mult însăși existența raselor secundare.

Scanned with OKEN Scanner

Totodată, genetica a adus și suportul teoretic necesar înțelegerii evoluției omului. Se știe că evoluția este un proces extrem de complex, dar că procesele fundamentale ale evoluției sînt aceleași în toată lumea vie. Evident, în evoluția omului un rol hotărîtor l-au avut și factorii sociali.

Rămîn însă și numeroase incertitudini, generate de raritatea resturilor fosile, în special a resturilor de la sfîrșitul epocii terțiare și începutul cuaternarului. Geneticienii admit că evoluția umană s-a făcut îndeosebi prin filiație. Ca atare, părerea antropologilor că au existat mai multe specii de pitecantropi sau neandertalieni trebuie revizuită. Mai mult chiar, dacă înțelegem evoluția de pe pozițiile geneticii și admitem ipoteza că au avut loc încrucișări între neandertalieni și oamenii sapiens fosili — ipoteză cu totul posibilă — atunci și unii și alții aparțin unei singure specii.

Mare beneficiară a dezvoltării geneticii este medicina. Pătrunderea gîndirii și a metodelor genetice în medicină a constituit o revoluție cu consecințe încă greu de delimitat.

Pentru a înțelege semnificația acestei revoluții trebuie să pornim de la faptul că nenumărate secole medicina s-a ocupat, așa cum remarca Dobzhansky, de ocrotirea fenotipului. Medicina observase însă că singura realitate biologică este individul, că nu există boli, ci numai bolnavi. Explicația individualității a adus-o genetica. Ea a arătat că fiecare individ este un unicat. Datorită particularităților lui ereditare și condițiilor de mediu în care a trăit, el se va dezvolta într-un anumit fel, va reactiona caracteristic la jocul factorilor de mediu, va da o coloratură specifică bolilor lui.

Genetica a arătat că o bună parte din patologia umană este de origine ereditară. În aceste cazuri, boala își pierde caracterul ei individual și devine o problemă care poate interesa generații și uneori chiar populații întregi. De aceea, Gedda spunea că patologia ereditară este transhumană și interumană.

Genetica umană urmărește astfel nu numai destinul individului, dar și destinul societății umane. Apărînd individul, ea apără și generațiile următoare.

Genetica medicală este o știință de sinteză care unește medicina cu genetica, care aplică în medicină concepțiile și rezul-

tatele geneticii. Ea nu operează însă cu ființe abstracte, ci cu indivizi. Iată de ce Gedda propune ca din genetica medicală să se desprindă, ca entitate aparte, genetica clinică. Rolul acesteia ar fi de a folosi genetica la patul bolnavului.

Genetica medicală a arătat că în afara bolilor ereditare există un mare număr de boli mixte, boli determinate de mediu, care nu apar însă decît pe un teren individual particular. Acest teren, numit în medicină și în antropologia clasică predispoziție sau diateză, este greu de definit.

Cercetările gemelologice și de genetică clinică au fundamentat ideea că boli foarte variate, ca silicoza sau alergiile, se întîlnesc numai la indivizi predispuși genetic. Trebuie să admitem astfel că cea mai mare parte a patologiei noastre se datorește, mai mult sau mai puțin, și eredității. În momentul în care vom înțelege mai bine ce înseamnă predispoziție, vom găsi fără îndoială și căile care să ne ducă la rezolvarea multora dintre problemele pe care le ridică patologia.

Multe dintre descoperirile geneticii au fost folosite în medicină. Este suficient să reamintim că după descoperirea cariotipului uman citogenetica a devenit o metodă indispensabilă investigației clinice, sau că noile descoperiri ale geneticii moleculare ne permit să înțelegem mai clar mecanismele complexe ale apariției bolilor ereditare. Începem acum să vorbim și în patologia umană de boli prin mutații în genele structurale sau în genele de control.

Genetica medicală este genetica aplicată. Ea are, în egală măsură, caracter preventiv și caracter curativ. Cunoscînd modul de transmitere a bolilor putem începe profilaxia din momentul nașterii individului sau chiar mai înainte.

Genetica ne-a apropiat de înțelegerea istoriei individului — nașterea, bătrînețea, moartea, marile probleme ale biologiei și filozofiei din totdeauna. Știm acum că oul din care se va dezvolta un animal conține programul evoluției speciei respective. Bătrînețea, definită de Strehler ca descreșterea graduală a adaptării unui organism în mediul lui normal după sfîrșitul perioadei de reproducere, se datorește, printre altele, inactivării genelor din celulele somatice. Dar cum se inactivează și de ce se inactivează genele nu știm.

Scanned with OKEN Scanner

Durata vieții noastre ca specie și poate ca individ este și ea condiționată genetic, ca rezultat al selecției naturale.

Știm că viața mentală recunoaște un coeficient ereditar. Dar știm, de asemenea, că acesta este încă un domeniu plin de necunoscute. În ciuda unui mare număr de cercetări experimentale și de observații riguroase, este încă foarte greu de spus ce contribuție are ereditatea la dezvoltarea vieții noastre psihice. Este, desigur, banal faptul că în aceeași familie copiii se deosebesc din punct de vedere psihic. În mod obișnuit punem aceste deosebiri în seama diferențelor constituționale. Acest termen echivoc exprimă, fără îndoială, prezența eredității.

Ideile genetice pătrund și în demografie. Fără îndoială, dinamica unei populații este determinată de complexitatea factorilor social-economici, dar nu exclusiv. Raportul între sexe, de pildă, este condiționat genetic. De obicei, numărul de băieți nou-născuți este superior celui de fete, fiind de 105/100. În unele țări — Coreea, Algeria, Argentina — acest raport crește la 109/100. Consecințele acestui fenomen sînt mai mult sau mai puțin importante. Ele pot fi deosebit de importante dacă populația este mică. Excesul de bărbați poate duce la migrarea unei părți din populație în regiuni unde raportul dintre sexe este normal. În condiții excepționale, tulburarea raportului dintre sexe poate duce chiar la dispariția populațiilor. Vom da un singur exemplu. În 1956, Gini a studiat o colonie norvegiană înființată în secolul al X-lea în Groenlanda. După aproape patru secole, această colonie a dispărut, probabil, din cauza creșterii anormale a numărului de bărbați. În lumea contemporană asemenea fenomene sînt extrem de rare.

Fecunditatea și mortalitatea diferențială sînt, de asemenea, condiționate ereditar. Este binecunoscut faptul că nu toți indivizii unei generații participă în egală măsură la formarea generației următoare. În 1958, Neel a arătat că 50% dintre femeile generației trecute au născut 88% din totalul generației noastre. În consecință, structura genetică a populației se va schimba.

În sfîrșit, factorii ereditari au un rol important în dezvoltarea micilor populații izolate. S-a arătat de multe ori că în populațiile cu volum mic și cu endogamie puternică, patologia

Scanned with OKEN Scanner

poate îmbrăca aspecte neobișnuite. În familiile consanguine se observă îndeosebi o creștere a mortalității infantile. Ameliorarea condițiilor social-economice a influențat foarte puțin acest fenomen. Scăderea mortalității infantile a apărut însă o dată cu spargerea izolatelor, deci o dată cu reducerea frecvenței uniunilor consanguine.

Genetica a pătruns, astfel, în toate domeniile existenței umane. Avem siguranța că pe baza progreselor geneticii vom putea delimita cu mai multă siguranță rolul eredității în întreaga noastră viață.

Scanned with OKEN Scanner

1

Aspecte din istoria geneticii umane

Cu mult înainte ca vechile documente indiene sau grecești să consemneze primele observații asupra eredității umane, omul cultiva și selecționa plante, domesticea și încrucișa animale. Astfel, multe dintre plantele cultivate în zilele noastre s-au cultivat încă din neolitic. Interesul omului pentru selecționarea animalelor este ilustrat de una dintre tăbliţele babiloniene descoperite în biblioteca din Ninive, pe care se găsește pedigriul unor cai.

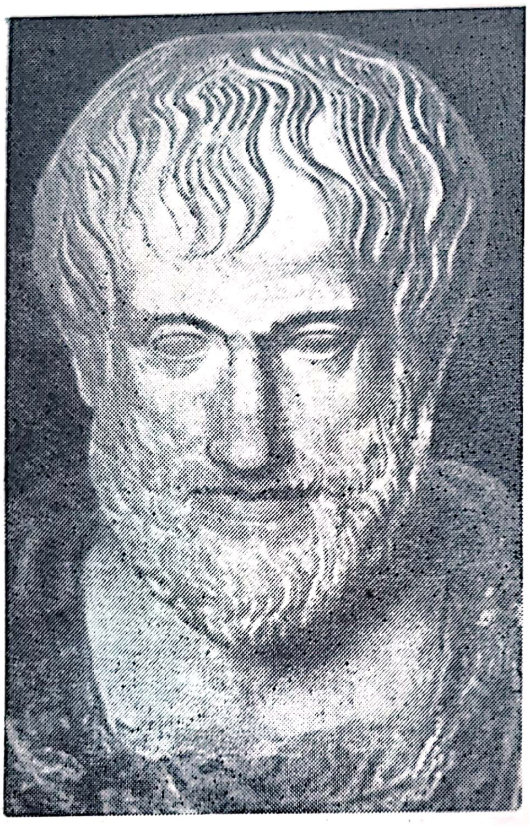
În același timp, omul a început să se preocupe și de propria lui ereditate. Ca rezultat al unei îndelungate și atente observații, într-una din vechile cărţi indiene, *Manava—Dharma—Sastra*, scrisă probabil în mileniul al II-lea î.e.n., sînt menționate consecințele nefavorabile ale căsătoriilor consanguine sau ale uniunilor în care unul dintre parteneri avea malformații ale membrelor sau epilepsie.

În Grecia antică, în mileniul I î.e.n. ereditatea devine o problemă asupra căreia își îndreaptă atenția toți filozofii. La Anaximandru din Milet (610—546 î.e.n.) găsim primele idei evoluționiste. El presupune că animalele au apărut în apă. De aici au trecut pe uscat și au dat naștere tuturor speciilor, inclusiv omului.

Urmașii lui Anaximandru, Empedocle și Anaxagora (499—428 î.e.n.), au promovat ipoteze naive despre fecundaţie și despre originea celulelor germinale. Ei credeau că celulele germinale masculine sînt secretate de întregul organism. Anaxagora susține că viitorul organism se găsește preformat în celulele germinale.

Numeroase date valoroase asupra eredității ne-au rămas de la Hipocrate (460—377 î.e.n.). În *Corpus Hippocraticum* se arată că copiii cu ochi albaștri se nasc din părinţi cu ochi albaștri, iar bărbaţii cu alopecie, din taţi care au avut alopecie. Tot aici

Scanned with OKEN Scanner



1. Aristotel

se menționează pentru prima oară în istoria geneticii că guta și epilepsia sînt boli ereditare.

Dintre numeroasele ipoteze formulate de Platon o valoare deosebită o are indicația că în lumea animală ar trebui folosită o continuă selecție a celor mai buni, precum și recomandarea ca uniunile între rude foarte apropiate să fie interzise.

Pentru biologie însă figura cea mai importantă a vechii Grecii rămîne Aristotel (384—322 î.e.n.). În *Historia Animalium* se găsesc multe observații interesante asupra eredității.

Astfel, Aristotel arată că „din părinți deformați se nasc copii deformați, ologi din ologi, orbi din orbi și în general copiii moștenesc adesea ceea ce este particular la părinții lor și se nasc cu aceleași semne... Asemenea lucruri au fost văzute la trei generații; de pildă, un anumit om are un semn pe braț pe care fiul său nu-l are, dar nepotul lui îl are în același loc, chiar dacă nu este foarte clar".

Aristotel admite, de asemenea, că unele malformații sînt ereditare, dar că acestea pot fi determinate și de factorii de mediu, în care caz însă nu se moștenesc. Aristotel a studiat și felul cum se transmit caracterele de la părinți la descendenți, remarcînd asemănarea hibrizilor din generația a II-a cu părinții. Prin cercetările experimentale pe care le face pe ouăle de găină, el ajunge la concluzia că embrionul se formează treptat. Datorită acestei ipoteze, Aristotel este considerat creatorul epigenezei.

Dintre învățații romani, filozoful materialist Lucrețiu (99—55 î.e.n.) s-a preocupat, printre altele, și de problemele eredității.

Scanned with OKEN Scanner

La el întîlnim, ca și la învățații greci, ideea asemănării dintre părinți și copii și părerea că asemănarea mai mare cu tatăl sau cu mama se datorește seminței mai puternice a unuia sau altuia dintre părinți.

Primele secole ale erei noastre sînt ilustrate de Galen (130—200). Experimentator și observator atent, el a studiat legătura dintre constituție și boală, a făcut numeroase disecții pe animale și a descris cîteva malformații congenitale.

Evul mediu n-a adus contribuții importante în cunoașterea eredității. Secole la rînd gîndirea biologică a fost dominată de ideile lui Aristotel și Galen. În această lungă perioadă de anonimat științific singurele cercetări valoroase sînt cele ale lui Albertus Magnus (1193—1280).

El deosebește la om o parte ereditară și o parte influențată de mediu. Partea ereditară asigură asemănarea cu ceilalți membri ai speciei — *ad naturam* — și asemănarea cu ceilalți membri ai rasei și cu părinții — *ad personam*. Caracterele ereditare provin astfel de la părinți, de la ascendenții apropiați și de la strămoșii îndepărtați filogenetic. Magnus susține și transmiterea ereditară a caracterelor dobîndite. El a remarcat și moștenirea unor boli. Cunoștea — după cum notează Mayer — și cîteva malformații: polidactilia, hermafroditismul, situs inversus. De asemenea, Magnus admite că factorii de mediu, alimentația mamei, de pildă, pot modifica ereditatea.

Secolele al XIV-lea și al XV-lea, secole care cunosc o mare dezvoltare a artelor și literelor, aduc puține date noi asupra eredității.

În secolul al XVIII-lea apar primele observații corecte asupra celulelor la plante și sînt descoperite celulele germinale masculine și feminine. Aceste evenimente remarcabile au influențat profund dezvoltarea biologiei.

Regnier de Graaf (1641—1673) descoperă foliculul ovarian și demonstrează că individul se formează din unirea spermei cu un ovul care preexistă în „testele" femeii. După unire, oul coboară în uter, unde începe dezvoltarea. Jan Swammerdam (1637—1680) susține că dezvoltarea se face din formațiuni preexistente în ovul. Spermatozoizii au fost descoperiți ceva mai tîrziu de L. Hamm și cercetați apoi de Antony van Leeuwenhoek (1632—1723). Spre deosebire de ceilalți anatomiști de la

2. A. von Leeuwenhoek

Leyda, el susține că acești animaculi sînt o copie miniaturală — homunculus — a viitorilor indivizi. Aceste ipoteze anunță marea dispută care va începe între preformism și epigeneză. Epigeneza, teoria care susține că individul se formează treptat dintr-un ou nediferențiat și care se opune astfel preformismului, a fost formulată de Wolff (1759).

În secolul al XVIII-lea se fac numeroase hibridări experimentale. Cel mai cunoscut experimentator al acestei perioade a fost Joseph Kölreuter (1733—1807). El a demonstrat că din încrucișarea dintre plante diferite rezultă descendenți fertili. Numărul hibridărilor va crește apoi din ce în ce mai mult în secolul al XIX-lea.

În sfera preocupărilor biologiei din secolul al XVII-lea intră și importante cercetări de genetică medicală. În 1665 apare la Londra cartea lui Edmund de Meara, *De Morbis Hereditariis*. Noțiunea de boală ereditară nu era încă lămurită. Se considerau deseori ca ereditare toate bolile care se transmiteau copiilor, inclusiv bolile infecțioase. În secolul următor patologia ereditară preocupă din ce în ce mai mult lumea medicală și numărul observațiilor crește mereu. De pildă, Morgagni (1682—1771) menționează printre bolile ereditare guta, litiaza biliară, epilepsia, cataracta, surditatea, strabismul. În secolul al XVIII-lea lumea medicală este preocupată de felul cum se transmit aceste boli. În anul 1748, Academia din Dijon, reflectînd interesul pentru problemele de eredopatologie, instituie un premiu pentru cea mai bună lucrare despre felul cum se transmit bolile ereditare.

Scanned with OKEN Scanner

Tot în prima jumătate a secolului al XVIII-lea, Maupertuis observă că polidactilia are caracter familial. Maupertuis este o personalitate interesantă pentru istoria geneticii. Așa cum menționează Guyénot, în lucrările lui se găsesc idei despre preadaptare, evoluție și mutație. Se pare chiar că a încercat să obțină noi specii de animale prin încrucișarea unor specii diferite.

La începutul secolului al XIX-lea apar, prin eforturile familiei Vilmorin, ale lui Gärtner, ale lui Herbert și îndeosebi ale lui Sageret și Naudin, importante cercetări de hibridizare la plante. În 1826, Sageret arată că la hibrizi caracterele nu se contopesc, ci apare doar unul dintre caracterele parentale. Același fenomen s-ar întîlni și la om. Prin aceste observații, el este considerat uneori ca fondatorul „mendelismului". Totuși, lui Naudin îi revine meritul de a fi remarcat nu numai transmiterea independentă a caracterelor ereditare, ci și asemănarea hibrizilor din prima generație și variabilitatea hibrizilor din generația a doua.

Paralel cu cercetările experimentale, biologia de la sfîrșitul secolului al XVIII-lea și începutul secolului al XIX-lea încearcă

3. Homunculuși văzuți de Leeuwenhoek

Scanned with OKEN Scanner

să explice originea și diversitatea lumii vii. Buffon (1707—1789) și Erasmus Darwin (1731—1802) susțin idei evoluționiste. Pentru Buffon întreaga lume animală derivă dintr-o specie primară, care a suferit nenumărate transformări.

Cel mai important eveniment de la începutul secolului al XIX-lea îl constituie apariția cărții lui Lamarck, *Philosophie zoologique* (1809). Pentru Lamarck, evoluția este rezultatul adaptării directe la mediu și al transmiterii caracterelor dobîndite. Ideile lui au fost însă trecute cu vederea pentru că în această perioadă în biologie domnea fixismul lui Cuvier. Singura problemă care prezenta interes era dacă din mîinile creatorului au ieșit tot atîtea specii cîte se cunosc, așa cum afirmase Linné. Variația organismelor era astfel exclusă. Uitate au fost și ipotezele lui Chambers, care, în *Vestiges of the natural history of creation* (1844), promova unele concepții evoluționiste.

În prima jumătate a secolului al XIX-lea, citologia face progrese importante. Karl Baer descoperă, în 1827, ovulul la mamifere și stabilește că fiecare animal se dezvoltă din această formațiune. Datorită cercetărilor lui Schleiden (1804—1881) și Schwann (1810—1882), pe la jumătatea secolului al XIX-lea se fundamentează teoria celulară.

Jumătatea secolului al XIX-lea este marcată de două evenimente cu totul remarcabile: apariția *Originii speciilor* (1859) și publicarea lucrării lui Mendel, *Versuche über Pflanzen Hybriden* (1865).

Originea speciilor marchează începutul evoluționismului modern. Darwin a demonstrat că speciile actuale sînt rezultatul unor îndelungate și lente transformări, care au apărut ca o consecință a variațiilor definite și nedefinite. Primele reprezintă răspunsul organismului la anumite condiții de mediu. Darwin remarca însă că este foarte greu de apreciat ce valoare au aceste schimbări pentru evoluție. Variațiile nedefinite sînt întîmplătoare și ele au avut un rol important în formarea raselor. Variațiile nedefinite constituie materialul supus selecției naturale. Marele merit al lui Darwin este de a fi înțeles că selecția dirijează evoluția, că din numeroasele modificări apărute vor fi păstrate numai cele favorabile, cele care asigură purtătorilor ceea ce am numi astăzi un avantaj adaptativ,

Scanned with OKEN Scanner

iar cele nocive vor fi eliminate. Pentru Darwin, selecția este o consecință a luptei pentru existență, luptă în care vor supraviețui cei mai bine înzestrați.

Opera lui Darwin a constituit una dintre cele mai mari realizări ale secolului trecut. Într-o scrisoare adresată lui Marx, Engels arată că pînă atunci încă nu existase o încercare atît de măreață de a demonstra dezvoltarea istorică în natura vie.

Darwin însă și-a dat seama că legile eredității rămîn și pe mai departe necunoscute. În *Originea speciilor*, el sublinia faptul că nimeni nu știe de ce uneori anumite caractere se transmit, alteori nu, și de ce uneori copilul seamănă cu bunicii sau chiar cu un strămoș. La aceste întrebări a răspuns Mendel.

Gregor Mendel (1822—1884) reușește să explice procesele fundamentale ale eredității. Spre deosebire de predecesorii săi, experimentatori poate la fel de abili, Mendel are avantajul unei culturi multilaterale (istorie naturală, botanică, chimie, fizică și mai ales matematică), însușite la Universitatea din Viena. Între 1853—1868 a fost profesor de științe naturale și filozofie modernă la Școala superioară din Brno. În această perioadă și-a făcut celebrele lui experiențe. Lucrările fundamentale au fost efectuate la plante. A încrucișat mai multe soiuri care difereau între ele printr-unul sau mai multe caractere și a analizat matematic rezultatele obținute. A înțeles însă că pentru a obține rezultate concludente are nevoie de experiențe simple, efectuate pe un mare număr de încrucișări. De aceea a ales numai linii pure de plante, care se înmulțeau prin autopolenizare și care se deosebeau prin caractere

evidente. Pînă la Mendel s-a crezut că descendenții moștenesc caractere intermediare între cele ale părinților. Mendel demonstrează însă că fiecare caracter se trasmite independent și că în cursul generațiilor caracterele reapar în combinații diverse. Fiecare individ este un mozaic de caractere paterne și materne. Caracterele se transmit apoi fie dominant, fie recesiv.

Mendel a lămurit două aspecte fundamentale ale eredității: modul de transmitere al caracterelor și importanța recombinării ca izvor al variațiilor. Cercetările lui nu au fost însă înțelese de contemporani, deoarece biologia nu avea o bază teoretică și experimentală suficient de largă. Totodată, în cea de-a doua jumătate a secolului al XIX-lea — așa cum remarca Mayer — lumea științifică era atrasă de alte probleme: descoperirea lui Pasteur, progresele impresionante ale bacteriologiei și evoluționismul lui Darwin.

De aceea, pentru acceptarea concluziilor lui Mendel au mai fost necesare aproape patru decenii. În acest interval de timp în biologie s-au făcut descoperiri fundamentale. Cea mai importantă a fost seria de lucrări care a contribuit la apariția citologiei ca știință. Chiar în 1866 Haeckel susține, în lucrarea sa *Generelle Morphologie*, că nucleul este elementul fundamental al eredității. În 1875, Hertwig demonstrează că fertilitatea este rezultatul unirii a doi gameți. În același an, Strasburger și Fleming descoperă cromozomii. Denumirea de cromozom aparține însă lui Waldeyer. În 1883, Van Beneden observă că în celulele germinale are loc reducerea numărului de cromozomi. Se studiază apoi din ce în ce mai mult procesul

Scanned with OKEN Scanner

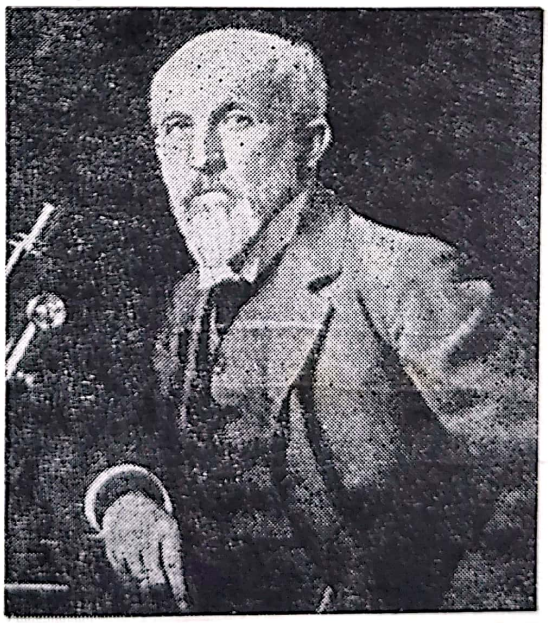
de cariochineză. În 1884, Karl Rabl afirmă că fiecare specie are un număr invariabil de cromozomi.

Secolul al XIX-lea se apropia de sfîrșit. În linii mari, substratul material al eredității era cunoscut. Toate cunoștințele din această epocă sînt sintetizate în marea lucrarea a lui Wilson, intitulată *Celula*.

La începutul secolului al XIX-lea, cu mult înainte de apariția lucrărilor lui Mendel, s-au pus bazele geneticii medicale. În 1814, Joseph Adams publică lucrarea *A treatise on the suppose hereditary properties of diseases based clinical observations*, în care se găsesc numeroase observații valabile și astăzi. El deosebește bolile familiale (recesive) de bolile ereditare (dominante). În bolile familiale, părinții sînt uneori rude. Una dintre cele mai surprinzătoare observații ale lui Adams, observație care a fost confirmată cu un secol mai tîrziu, este că aceleași tulburări clinice pot fi determinate de tulburări genetice diferite.

În 1820, C. F. Nasse publică un studiu asupra hemofiliei și confirmă ipoteza că boala este transmisă numai de femei, manifestîndu-se însă exclusiv la bărbați. Idei asemănătoare întîlnim cu cîțiva ani mai înainte la Kemnitz (1793) și Otto (1803).

Cu timpul s-au acumulat noi date asupra caracterului ereditar al multor boli. Brown-Sequard, Hutchinson, Paget, Clark studiază caracterul ereditar al tulburărilor nervoase, al anomaliilor oculare, al cancerului și al tulburărilor articulare. Galton propune noi metode de cercetare a caracterelor normale. El este primul genetician care a inițiat studiul gemenilor ca metodă de cercetare a relației dintre organism și mediu. De altfel, numeroși clinicieni observaseră mare asemănare a geme-



6. O. Hertwig

nilor. Într-o lecție ținută în 1873, Trousseau sublinia cu o oarecare nedumerire faptul că doi gemeni pe care îi studiase aveau astm și, aproape în același interval de timp, prezentau tulburări oculare asemănătoare. Semnificația acestor observații era, firește, necunoscută.

În a doua jumătate a secolului al XIX-lea, evoluționismul continua să rămînă unul dintre cele mai dezbătute subiecte ale biologiei și filozofiei. Huxley și Spencer în Anglia, Haeckel în Germania și Timireazev în Rusia devin marii apărători ai darvinismului.

În Franța darvinismul pătrunde însă mai greu.

În felul acesta, terenul pentru înțelegerea lucrărilor lui Mendel era pregătit. De aceea nu este surprinzător faptul că în același timp (1900) Hugo de Vries, Carl Correns și Erich von Tschermak redescoperă marea semnificație a cercetărilor mendeliene, contribuind astfel la apariția geneticii moderne.

Valoarea lucrării lui Mendel era atît de mare, încît în 1902 Bateson afirma că perioada de confuzie în genetică a rămas mult în urmă.

Conceptul de mendelism a fost uneori greșit interpretat. În genetica modernă prin mendelism se înțelege „linia de cercetări în ereditate care pleacă direct de la experiențele lui Mendel. Metoda folosită de el este încrucișarea, iar rezultatul, analiza genică a caracterelor. În prezent, mendelismul constituie numai o parte a geneticii, dar el reprezintă baza pe care s-a constituit întreaga genetică modernă (*Křízenecký*).

După redescoperirea mendelismului, evoluția ulterioară a geneticii a fost extrem de rapidă. Iată cele mai importante momente de la începutul secolului al XX-lea:

În 1901, De Vries elaborează teoria mutațiilor.

În aceeași perioadă (1902), Mac Clung anunță descoperirea cromozomilor de sex, iar Garrod intuiește existența erorilor înnăscute de metabolism.

Cercetările pe linii pure sînt începute în 1903 de Johannsen. În 1905 Biffen formulează principiile imunogeneticii. Tot atunci Farabee demonstrează că brahidactilia se transmite în conformitate cu legile mendeliene.

Scanned with OKEN Scanner

Bateson și Punnett descoperă în 1906 *crossing-over*-ul și tot atunci primul introduce termenul de genetică.

În 1909, Correns și Baur descoperă ereditatea citoplasmatică, iar în 1910, Morgan emite teoria cromozomică a eredității.

Primele hărți cromozomiale sînt elaborate de către Sturtevant în 1913. Goldschmidt pune bazele geneticii fiziologice în anul 1917.

Tot Sturtevant descoperă în 1925 efectul de poziție. Muller relevă efectul mutagen al radiațiilor X la drosofilă (1927). În același an, Stadler descoperă efectul mutagen al radiațiilor X la porumb, iar între 1932 și 1934, Painter stabilește existența cromozomilor giganți la drosofilă.

7. H. de Vries

Fiecare dintre aceste mari descoperiri ne-a apropiat de înțelegerea fenomenelor atît de complexe ale eredității.

Teoria mutațiilor elaborată de De Vries a lămurit originea variabilității, dar discuțiile asupra formării speciilor erau încă departe de a fi unitare. Singurul fapt care unea pe De Vries, Lotsy și Bateson era recunoașterea mutațiilor ca proces fundamental al evoluției. În această perioadă de pasionante discuții, Mac Clung afirmă că diferențierea sexuală este rezultatul unirii unor gameți diferiți ca număr de cromozomi. Gameții masculini, care au un cromozom accesoriu X, vor produce descendenți masculini. Stevens sugerează însă ideea că acest cromozom orientează oul în sens feminin. Confirmarea definitivă o aduce Morgan prin studiile efectuate asupra drosofilei. După descoperirea cromozomilor de sex a fost fundamentată teoria genică. Termenul de genă aparține lui Johannsen. Tot el a arătat că este necesar să se facă deosebire între

genotip (totalitatea masei ereditare) și fenotip (ansamblul trăsăturilor exterioare).

Morgan a arătat că la drosofilă genele sînt dispuse liniar pe cromozomi și că fiecare cromozom conține un grup de gene. A urmat apoi stabilirea locului pe care îl ocupă fiecare genă într-un anumit cromozom. Aceste descoperiri i-au permis lui Langevin să spună că genele au trecut de la rangul de ipoteze la cel de principii. După descoperirea cromozomilor giganți a devenit posibil studiul direct al genelor. O dată cu aceasta, legile fundamentale ale eredității încep, în linii mari, să fie cunoscute.

Teoria cromozomică a eredității a dus la ipoteza că anomaliile cromozomiale pot antrena tulburări fenotipice importante. După ce Bridges a confirmat existența acestui fenomen la drosofilă, el a fost admis ca explicație și pentru intersexualitățile umane.

După un timp s-a demonstrat că mutațiile pot fi obținute și experimental. Trebuie remarcat însă că efectele nocive ale radiațiilor artificiale erau cunoscute încă de la începutul secolului și că în 1924 Bagg și Little demonstraseră efectul teratogen al radiațiilor X. Muller a folosit ca model experimental drosofila. Cu ajutorul radiațiilor a obținut inițial numeroase și variate aberații cromozomiale. Mai tîrziu a arătat că mutațiile genice spontane apar și după iradiere. Între cele două feluri de mutații nu există nici un fel de deosebiri calitative. Pe această bază s-a emis ipoteza că radiațiile naturale sînt unul dintre factorii care au jucat un rol major în evoluție.

La sfîrșitul deceniului al treilea al secolului nostru genetica se individualizase ca știință independentă, reușind să stabilească natura elementelor materiale care asigură ereditatea și modul de transmitere a caracterelor. A fost o etapă extrem de fecundă.

Anii următori au adus mai puține descoperiri importante. Emerson demonstrează în 1932 că dispoziția liniară a genelor în cromozomi se întîlnește și la porumb. În același timp, Dubinin presupune că gena poate fi împărțită în alte unități mai mici.

Scanned with OKEN Scanner

În această perioadă cercetările de genetică vegetală ale lui Miciurin au subliniat încă o dată influența importantă a mediului asupra dezvoltării organismului.

Progresul în acest domeniu trebuia asigurat prin descoperirea altor modele experimentale și mai ales prin utilizarea unor mijloace tehnice noi. Marea revoluție pe care o cunoaște genetica contemporană se datorește colaborării cu specialiști din domenii considerate înainte ca foarte îndepărtate, cum sînt biochimia, biofizica, cibernetica și medicina. De asemenea, drosofila, obiectul preferat al geneticii de la începutul secolului, este înlocuită cu diverse microorganisme. Ele oferă posibilitatea de a aborda mai ușor relația dintre gene și proteinele specifice.

Cercetările care aveau să aducă cele mai spectaculoase rezultate în genetică privesc natura biochimică a substratului material al eredității. În 1939 „apar pe scenă acizii nucleici" (Hadorn). Făcînd bilanțul puținelor date cunoscute, Caspersson emite ideea îndrăzneață că acizii nucleici au un rol major în sinteza proteinelor.

În 1944, Avery demonstrează că substanța cu care Griffith obținuse transformarea pneumococilor necapsulați în pneumococi capsulați este acidul dezoxiribonucleic. Studiul acizilor nucleici a constituit apoi unul dintre cele mai pasionante capitole ale biologiei. În 1953, Watson și Crick propun un model al structurii ADN-ului, model verificat ulterior de numeroase experiențe. Se obține ADN în stare pură și se dovedește prin experiențe care nu comportă nici un fel de rezerve că el este substratul eredității. Acidul dezoxiribonucleic constituie o matriță pe care este înscrisă, într-o ordine bine stabilită, informația genetică. În ultimii ani a fost descifrat codul genetic, ceea ce a permis urmărirea transmiterii informației ereditare de la matrița de ADN pînă la sinteza proteinelor specifice. Conceptul de genă a fost revăzut. De la ipoteza lui Beadle și Tatum care presupune că o genă determină sinteza unei enzime (ipoteza a cărei origine poate fi găsită în lucrările lui Garrod, Scott-Wright și mai ales Grüneberg), se ajunge la ipoteza că o genă determină sinteza unui lanț polipeptidic (Benzer).

În același timp, beneficiind de rezultatele obținute în decursul anilor: culturile de celule, acțiunea colhicinei și efectele

Scanned with OKEN Scanner

dispersante ale soluțiilor hipotonice, Tjio și Levan descoperă în 1956 cariotipul uman. Discuțiile începute în 1912 de Winiwarter, care afirmase că omul are 47 de cromozomi, și continuate de Painter, care susținea că omul are 48 de cromozomi, s-au terminat. Astăzi se știe că omul are numai 46 de cromozomi. În 1959, Lejeune confirmă vechea ipoteză că anomaliile cromozomiale constituie una dintre cauzele importante ale patologiei umane.

Genetica umană s-a dezvoltat paralel cu genetica generală. Astfel, după descoperirea legilor lui Mendel devine clar faptul că și omul se supune legilor generale ale eredității, că bolile lui se transmit după aceleași legi care condiționează și transmiterea caracterelor normale. În 1902, Garrod presupune că unele tulburări clinice nu sînt decît erori înnăscute de metabolism, moștenite recesiv. Cercetările lui Garrod marchează începutul geneticii biochimice. În 1905, Farabee demonstrează că brahidactilia se transmite dominant. În anii următori marea preocupare a geneticii medicale a fost de a demonstra originea ereditară a unui număr din ce în ce mai mare de boli. Singura metodă folosită a fost studiul familiei. În medicină se acumulează un material faptic uriaș, pe baza căruia s-a putut afirma că numărul bolilor ereditare este neobișnuit de mare. Pe aceeași cale se individualizează noi sindroame și se demonstrează că toate genele pot suferi mutații. Lămurirea drumului de la mutații la manifestări patologice este însă departe de posibilitățile acestei perioade.

Paralel cu dezvoltarea geneticii medicale se amplifică cercetările de antropologie clinică. Scopul acestor cercetări era de a demonstra că mediul intervine în întreaga desfășurare a unei maladii. Ideea cunoscută de Hipocrate și Galen este clar formulată de Claude Bernard: *La maladie n'est rien; le terrain est tout.*

La sfîrșitul secolului al XIX-lea și începutul secolului al XX-lea apar numeroase școli constituționaliste, fiecare încercînd să înțeleagă relația teren-boală pornind de la principii diferite: morfologice (Sigaud, Viola), endocrine (Parhon, Pende), embriologice (Sheldon).

Indiferent de punctul de plecare, toate școlile admiteau că ereditatea este unul dintre factorii fundamentali ai variabi-

Scanned with OKEN Scanner

lităţii individuale normale şi patologice. Dar insuficienta dezvoltare a geneticii şi uneori slaba legătură dintre genetică şi medicină au lipsit antropologia clinică de baza necesară înţelegerii celebrei afirmaţii a lui Claude Bernard.

La începutul secolului al XX-lea s-a dezvoltat şi genetica populaţiilor, „ştiinţa care studiază structura genetică a diverselor tipuri de populaţii şi variaţiile ei eventuale de la o generaţie la alta“ (L'Héritier). Genetica populaţiilor îşi dezvoltă un sistem matematic propriu încă din primii ani ai acestui secol pe baza cercetărilor lui Pearson, Hardy, Weinberg. Generalizarea acestor teorii are loc cu două decenii mai tîrziu, în jurul anului 1930, de către Haldane, Fischer, Wright. Pentru a se diferenţia rolul eredităţii de cel al mediului încep să fie studiaţi gemenii (Siemens, Verschuer, Gedda). În această perioadă, în genetică încep să pătrundă metodele biochimiei.

Datorită acestor mari descoperiri, din unitatea funcţională a geneticii încep să se individualizeze ramuri bine definite, ca: genetica moleculară şi genetica medicală, radiogenetica, imunogenetica, citogenetica, farmacogenetica, gemenologia şi genetica evoluţionistă.

În felul acesta, genetica umană şi-a fixat locul în peisajul biologiei contemporane ca o ştiinţă de sinteză, care încearcă, folosind informaţiile pe care i le oferă celelalte ramuri ale geneticii, să descifreze procesele eredităţii umane.

În România, primele lucrări de genetică au apărut în deceniile al doilea şi al treilea al secolului nostru.

După 1930, genetica pătrunde din ce în ce mai mult în medicină. În 1934 are loc la Cluj un congres de neurologie consacrat geneticii, iar la Congresul internaţional de antropologie de la Bucureşti (1937) se discută numeroase probleme de genetică.

O contribuţie importantă la dezvoltarea geneticii umane a avut-o Societatea de genetică, creată din iniţiativa lui Gh. Marinescu în 1936. În acelaşi an, Gh. Marinescu şi G. K. Constantinescu publică două broşuri în care expun cîteva noţiuni de genetică.

Marele merit al acestei societăţi a fost acela de a fi încurajat cercetările de genetică medicală. La şedinţele societăţii luau parte activă Gh. Marinescu, C. I. Parhon (care în 1938, după

Scanned with OKEN Scanner

moartea lui Marinescu, a preluat conducerea societății), Șt. M. Milcu, N. Teodoreanu, Al. Caratzali, mulți dintre ei avînd un rol important în dezvoltarea geneticii medicale. Au participat, de asemenea, și mulți geneticieni străini, între care amintim pe Pende, Turpin, Frets-Dobrovolskaia, Zavadskaia etc.

În literatura medicală apar numeroase lucrări de genetică, scrise de C. I. Parhon, Gh. Marinescu, Șt. Milcu, Ionescu-Sisești și Al. Caratzali.

Interesul pentru genetică crește continuu. Pentru a familiariza pe biologi cu problemele fundamentale ale eredității, S. P. Cupcea, I. Biberi, V. Preda publică primele cărți de genetică. Înainte de cel de-al doilea război mondial au început și primele cercetări mai ample de antropologie contemporană. În cadrul acestor cercetări s-au urmărit între altele frecvența și distribuția cîtorva caractere normale, cu mod de transmitere binecunoscut, cum sînt grupele sanguine (Rainer). Mai tîrziu, datorită lui Șt. Milcu, în antropologie au început să fie folosite metodele moderne ale geneticii populațiilor.

În ultimii ani, genetica umană s-a dezvoltat intens. La cîteva simpozioane organizate de Institutul medico-farmaceutic și de Academia Republicii Socialiste România s-au discutat situația și liniile de dezvoltare ale geneticii umane. În 1964 are loc primul congres național de genetică, condus de Șt. Milcu, care demonstrează că genetica a înregistrat deja o serie de realizări importante. La Institutul de endocrinologie al Academiei, precum și în cîteva unități ale Ministerului Sănătății se creează laboratoare de genetică medicală.

De asemenea, se dezvoltă genetica populațiilor. Au loc numeroase cercetări în izolate, care subliniază importanța endogamiei pentru patologie (Milcu).

BIBLIOGRAFIE

Botnariuc, N., *Din istoria biologiei generale*. Editura Științifică, București, 1961.

Caratzali, Al., „Bull. et Mém. Sec. Endocr. Buc.", III, nr. 4/5, 1938, p. 88.

Constantinescu, G. K., *Ereditate și eugenie. Ce este eugenia. Știința eredității*, București, 1936.

Cupcea, S. P., *Probleme de eredobiologie,* Sibiu, 1944.
Dunn, L. C., *Genetics în 20th Century. Essays on the progress of genetics during its first 50 years,* Ed. Genet. Soc. of. America, New York, Mac Millan, 1958.
Idem, „Am. J. Hum. Genet.", 1962, 14, 1, 2.
Idem, „Bull. N. Y. Acad. Med.", 40, 5, 1964, p. 325.
Gardner, E., *Principles of Genetics,* J. Wiley, New York, Londra, 1960.
Gedda, L., „Acta Ge. Me. Ge.", X, nr. 2, 1961, p. 143.
Hanhart, E., „Schw. Med. Wschr.", nr. 24, 1961, p. 721.
Kallmann, F. J., „Acta Ge. Me. Ge.", 1961, X, 4, p. 377.
Lejeune, J., în *La Progenèse,* CIE, Paris, 1955, p. 154.
Mainx, F., *Foundation of Biology,* Univ. of Chicago Press, 1955.
Idem, „Acta Ge. Me. Ge.", XI, nr. 3, 1962, p. 239.
Marinescu. Gh., „Bull. Acad. Rom. Buc.", S III, XI, nr. 7, 1936.
Maximilian, C., „„Rev. Fiziol. Norm. Patol.", X, nr. 2, 1964, p. 121.
Mayer, C. F., „Acta Ge. Me. Ge.", II, nr. 3, 1953.
Milcu, Șt. M., „Prob. Antrop.", 1, 7, 1954.
Milcu, Șt. M., H. Dumitrescu, *Cercetări antropologice în ținutul Pădurenilor — Bătrîna,* Ed-Acad. R.P.R., București, 1962.
Milcu, Șt. M., „Stud. cercet. antrop.", 1, 1, 3, 1964.
Milcu, Șt. M., C. Maximilian, „Fiziol. norm. patol.", X, 2, 1964, 99.
Parhon, C. I., M. Goldstein, Șt. M. Milcu, *Manual de endocrinologie,* București, 1936.
Penrose, L. S., *Recent Advances in Human Genetics,* J. A. Churchill Ltd. London, 1961.
Raicu, P., *Genetica,* Editura Didactică și Pedagogică, București, 1964.
Rainer, Fr., *L'Oeuvre scientifique,* Monit. Oficial, București, 1945, 1947.
Stubbe, H., *Kurze Geschichte der Genetik bis zur Wiederentdeckung der Vererbungsregeln. Gregor Mendels,* VEB G. Fischer, ed. a II-a, Jena, 1965.
Teodoreanu, N., *Probleme de actualitate asupra eredității. Considerații critice asupra broșurii „Ereditatea experimentală",* București, 1928.
Wright, S., *„Am. J. Hum. Genet.",* 12, 3, 1960, 365.
Zirkle, C., *The discouvery of sex influenced sex — limited and sex — linked heredity,* Ed. by M.F.A. Montagu, New York, 1946.

Scanned with OKEN Scanner

2

Bazele celulare ale eredității

Existența unui plan general de organizare, unic pentru întreaga materie vie, a fost postulată încă din prima jumătate a secolului trecut de către Mathias Schleiden și Theodor Schwann. Coroborînd rezultatele propriilor lor lucrări cu cercetările anterioare, ei au atribuit celulei valoarea de unitate structurală elementară, comună tuturor ființelor vii. Formulată astfel într-o primă aproximație, aserțiunea de bază a „teoriei celulare" a fost confirmată, de atunci, de către practica biologică, așa încît astăzi, după 130 de ani, exactitatea ei apare mai evidentă ca oricînd.

În contextul de mai sus, celula reprezintă, bineînțeles, și nivelul de organizare compatibil cu realizarea „elementară" independentă a fenomenului eredității. Acest fapt explică necesitatea cunoașterii detaliate a structurii și funcționalității intime a celulei, pentru înțelegerea fenomenologiei complexe din genetică. Clasic, celula vie este descrisă ca fiind alcătuită din trei componente morfofuncționale: membrana, citoplasma și nucleul.

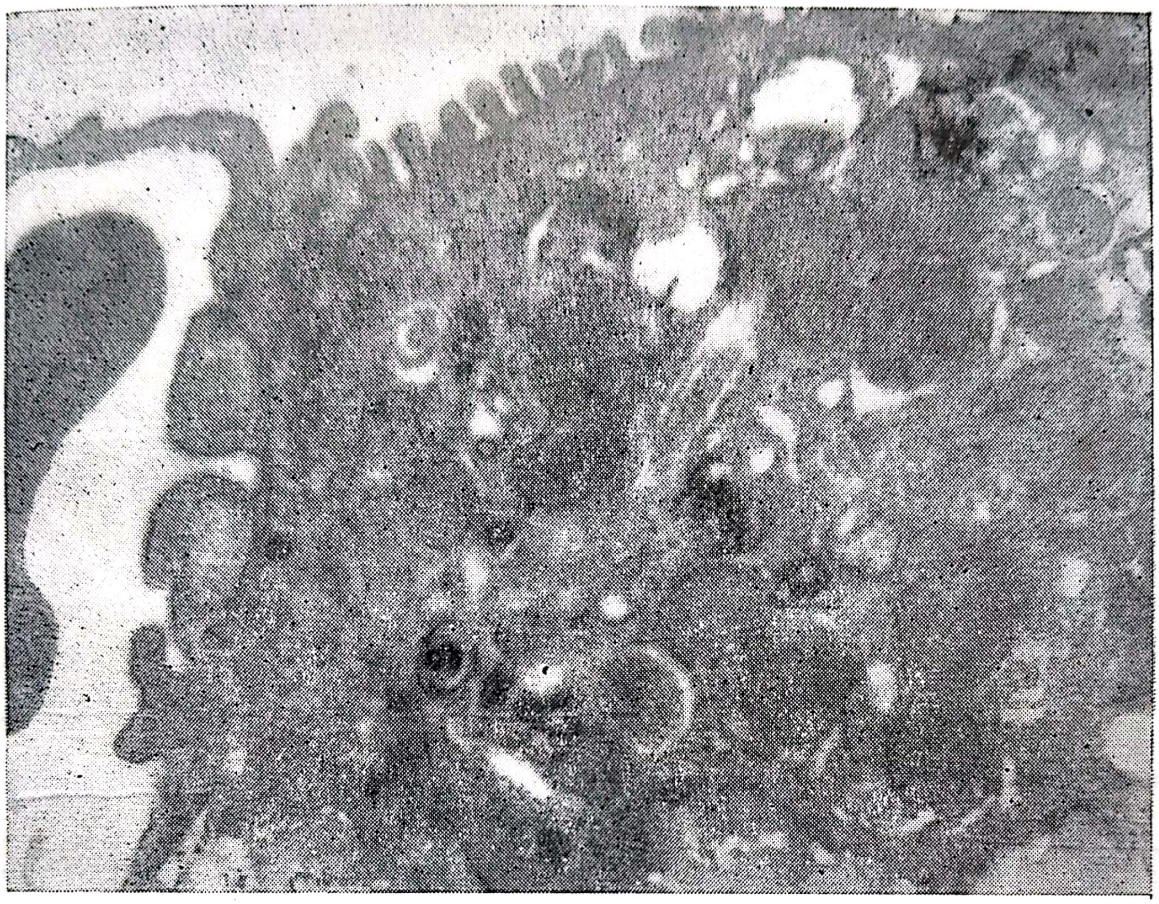
În general, membranei i se atribuie rolul de înveliș și de efector al controlului schimburilor de substanțe dintre celulă și mediul ei ambiant. Citoplasma asigură îndeplinirea funcțiilor vegetative și secretorii, iar nucleul — ce conține materialul genetic al celulei — dirijează reproducerea.

În cele ce urmează vom încerca să reamintim, în mod sistematic, acele date referitoare la morfofiziologia celulei a căror cunoaștere o considerăm indispensabilă pentru înțelegerea fenomenului eredității.

Nucleul

Nucleul este alcătuit din materialul genetic al celulei și din formațiunea diferențiată care îl găzduiește. În mod curent, în interfază, adică în perioada dintre două diviziuni ale celulei,

Scanned with OKEN Scanner



8. Macrofag din septul pulmonar. Se observă interdigitațiile membranei celulare. Imagine la microscopul electronic (× 14600)

nucleul este descris ca fiind alcătuit din cel puțin cinci componente: membrana nucleară, cromatina, nucleolul, ribozomii nucleari și sucul nuclear.

Membrana nucleară delimitează nucleul de citoplasmă. Ca structură, ea este constituită din două foițe: una externă, citoplasmatică, ce „continuă" membranele reticulului endoplasmic, și alta internă, aderentă de sucul nuclear. Între aceste două foițe există un spațiu larg de 1 500 Å.

Ambele foițe apar spongioase datorită „porilor" ce le perforează și care au diametrele de aproximativ 1 188 Å, în cazul oociților imaturi, și de 1 250 Å, în cazul oociților maturi (Merrien, 1962). Emergențele acestor pori de pe suprafețele celor două foițe sînt înconjurate de niște proeminențe inelare („mi-

croanulii"), ale căror diametre variază între 387 și 481 Å. După cum se vede, diametrele microanuliilor sînt mai mici decît cele ale porilor (Merrien, 1961).

În general, „porozitatea" suprafeței membranei celulare corespunde unei „densități" medii de 25—35 de microanuli pe micronul pătrat. Porii corespunzători de pe suprafețele celor două foițe sînt uniți între ei prin microtubuli de 150—180 Å diametru, lungi de 1 500 Å și înconjurați de o membrană groasă de 20 Å.

În lumenul microanulilor, cît și pe foița nucleară a membranei se observă granule care au o densitate electronică caracteristică ribonucleinelor (Meck și colab., 1961) și care pot fi identificate cu ribozomii nucleari.

Studiile asupra structurii chimice a membranei nucleare arată prezența unor proteine fibrilare, în compoziția cărora au fost evidențiați aminoacizi cu grupări α-amino libere (Veiner, Bona, 1962), printre care tiolaminoacizii, aminoacizii aromați și cei bazici (Bona și colab., 1963).

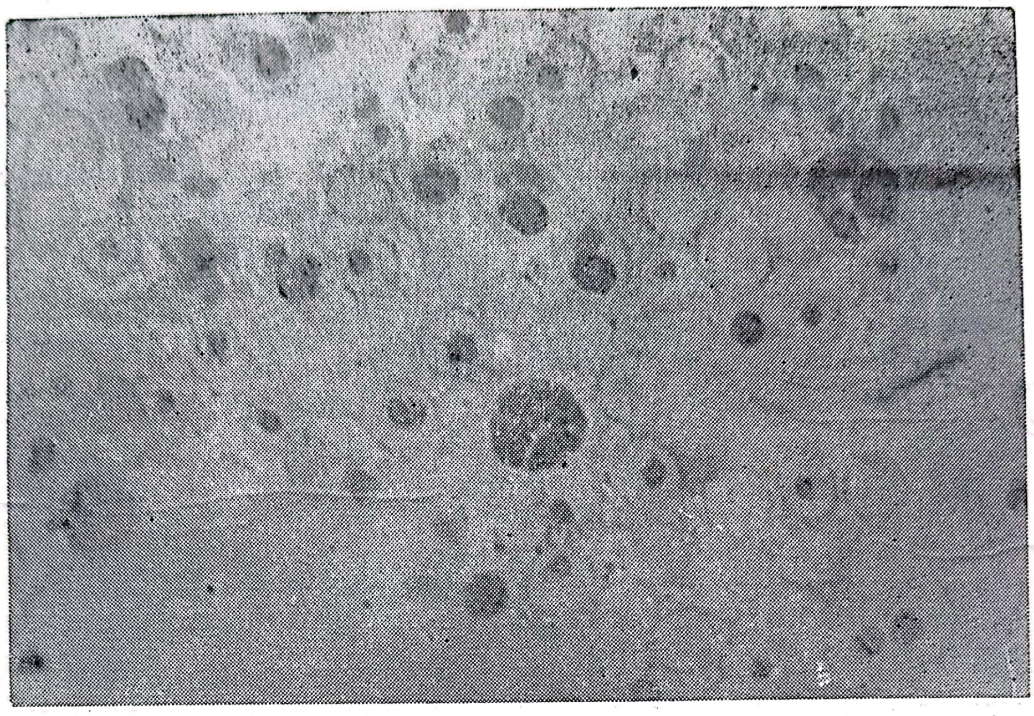
O problemă de un deosebit interes este prezența ribonucleoproteinelor în structura membranei nucleare.

Testele citochimice au indicat existența unei bazofilii (înlăturabilă prin digestie cu ribonuclează) atît în cele două foițe constitutive, cît și în lumenul microanulilor și canaliculilor. Observațiile electronice indică prezența unor granule de mărimea ribozomilor, cît și a unui material asemănător celui nucleolar. Cu toate că acest material este rezistent la ribonuclează (RN-ază), datele citochimice, precum și aspectul electronografic ne fac să credem, ca și Merrien (1961), că membrana nucleară conține în structura sa, pe lîngă complexele lipoproteice, și ARN.

Atît observațiile asupra creșterii continue a membranei nucleare, cît și prezența ribozomilor și a ARN-ului în structura sa indică existența unei sinteze continue de proteine, necesare creșterii și reînnoirii proteidelor constitutive.

Prezența structurilor canaliculare a sugerat încă de la început intervenția membranei în procesele de schimb nucleo-citoplasmatice. Această funcție a fost dovedită în mod indiscutabil de către Feldherr (1962), cu ajutorul aurului coloidal acoperit cu

Scanned with OKEN Scanner



9. Hematii de șoarece parazitate cu *Pl. berghei*. Se observă prezența fosfolipidelor din membrana hematiei. Colorația Sudan Black (× 400)

10. Celule de amnios uman de 24 ore. Prezența proteinelor în nucleoli, cromatină și membrana nucleară. Reacția cu ninhidrină, metoda Bona (× 900)

Scanned with OKEN Scanner

un strat de polivinil pirolidon, ce forma un agregat molecular de 35—80 Å.

Funcția de limitare a schimburilor nucleo-citoplasmatice a membranei nucleare este legată de scăderea numărului de operoni funcționali (gene cu activitate heterocatalitică) în cursul procesului de diferențiere celulară. În acest caz, se observă o reducere a numărului de pori pe unitatea de suprafață, concomitentă cu mișcarea nucleolului.

Cromatina este o formațiune filamentoasă care, după unii autori, plutește în sucul nuclear, iar după alții aderă la fața internă a membranei nucleare. Are drept constituent principal ADN-ul.

Cu toată lungimea sa, care depășește cu mult mărimea nucleului, cromatina începe în interiorul acestuia numai ca urmare a unui fenomen de încolăcire. Structuralizarea „în fir neîntrerupt" a cromatinei reprezintă un eveniment trecător în viața celulei, caracterizînd doar interfaza. În cursul etapelor următoare ale diviziunii celulare, cromatina se fragmentează în segmente numite cromozomi.

Astăzi se cunosc destul de puține detalii referitoare la structura intimă a cromatinei, deoarece firul este prea fin pentru a putea fi studiat cu ajutorul microscopului optic și prea grosolan pentru a putea fi analizat cu cel electronic. La începutul interfazei, filamentul de cromatină apare extrem de lung și de subțire (în citologia clasică era descris chiar ca o rețea datorită imaginii optice date de suprapuneri) iar spre sfîrșit se îngroașă, căpătînd numele de spirem.

Privită într-o secțiune transversală, cromatina pare alcătuită dintr-o pereche de fibrile cu $\varnothing = 100$ Å, înfășurate împreună în jurul axului longitudinal. Aceste două fibrile corespund celor două rînduri de „cromatide-surori" în curs de formare, care se evidențiază în prima fază a mitozei, profaza.

Din punct de vedere chimic, cromatina este constituită din ADN, proteine și ARN, care va fi mai mult sau mai puțin atașat de lanțul cromatinian, în funcție de starea funcțională a celulei și de stadiul ei de dezvoltare.

Existența în cromatină a ADN-ului a fost dovedită prin metode biochimice, citochimice și morfologice. El nu se găsește

liber, ci legat de proteine, formînd complexe dezoxiribonucleoproteinice. Principalele proteine din acest complex sînt histonele și proteinele acide. Histonele sînt proteine bazice cu greutate moleculară relativ mică, legate de ADN.

Demonstrarea morfologică a complexului ADN-histonă a fost făcută de Bloch (1962) cu ajutorul unor teste citochimice. Legătura dintre histone și ADN este de tip electrostatic, realizîndu-se între grupările bazice ale histonelor și cele fosfat ale acidului nucleic. Între numărul grupărilor fosfat și cel al resturilor de arginină, lizină și histidină din structura histonelor există o relație stoichiometrică (Bloch, 1961).

Prin diverse metode de cercetare utilizate s-a ajuns la concluzia că histonele formează complexe cu ADN *de-a lungul întregii lungimi a acestuia*. Moleculele de histone fiind mici, rezultă că modelul acestui complex poate fi imaginat ca un fir polinucleotidic lung, de care sînt atașate, una lîngă alta, molecule mici de histonă.

La alcătuirea complexului ADN-proteină participă, pe lîngă histone, încă o varietate de proteine de tip acid, care corespund formațiunilor morfologice descrise de Stedman sub numele de cromozini, și de Mirsky și Pollister sub numele de cromozomini. Aceste proteine reprezintă 22% din greutatea uscată a nucleilor hepatici (Bush, 1962).

În sfîrșit, prezența în cromatină a ARN-ului a fost demonstrată și cu ajutorul testelor citochimice: cromatina se colorează cu galocianină, la un pH = 1,64, și cu pironină (metoda Brachet), chiar după degradarea ADN-ului cu ajutorul dezoxiribonucleazei (DN-azei).

3 *Nucleolul* este un organit nuclear vizibil la microscop în celulele metazoarelor, în cursul interfazei. El este constituit în special din ARN și proteine. În 1931, Holtz a presupus că pentru fiecare set haploid ia naștere cîte un nucleol. Ulterior, alți autori au descris anumite regiuni din cromozomi — organizatori ai nucleolului — care ar fi responsabile de formarea materialului nucleolar. De fapt, se pare că materialul nucleolar se formează de-a lungul întregului cromozom și că acest material dispersat pe întreaga cromatină se organizează sub formă de nucleol propriu-zis de-abia la sfîrșitul telofazei.

Scanned with OKEN Scanner

Așadar, nucleolul apare ca o formațiune căreia îi lipsește continuitatea în timp și care reapare cu ocazia fiecărei noi telofaze.

Nucleolul are o structură omogenă, rotundă și bine definită, care în microscopia clasică nu pare a fi delimitată de vreo membrană. Ipoteza că interacțiunea dintre nucleol și celelalte componente ale sucului nuclear nu ar fi limitată de prezența unei membrane a fost, de altfel, confirmată cu ajutorul microscopului electronic, care a rezolvat și alte semne de întrebare referitoare la structura nucleolului. Astfel, acesta apare constituit din doi compuși morfologic distincți: fibrilele și granulele.

Fibrilele au o grosime de 150—200 Å (Berhard și colab., 1952, Jacob și colab., 1963, Marinozzi, 1964) și sînt situate mai ales în zona centrală a nucleolului, unde formează condensări numite de către Estable și Solena nucleolemi. În ochiurile delimitate de aceste fibrile se găsesc granulele, cu diametru de 50 Å, care prin intensitatea opacității lor electronice seamănă cu granulele lui Palade (vezi ribozomii nucleari). Atît fibrilele, cît și granulele se găsesc într-o matrice mai puțin densă, care dispare de obicei după fixarea în osmiu (probabil că este extrasă de către acest fixator).

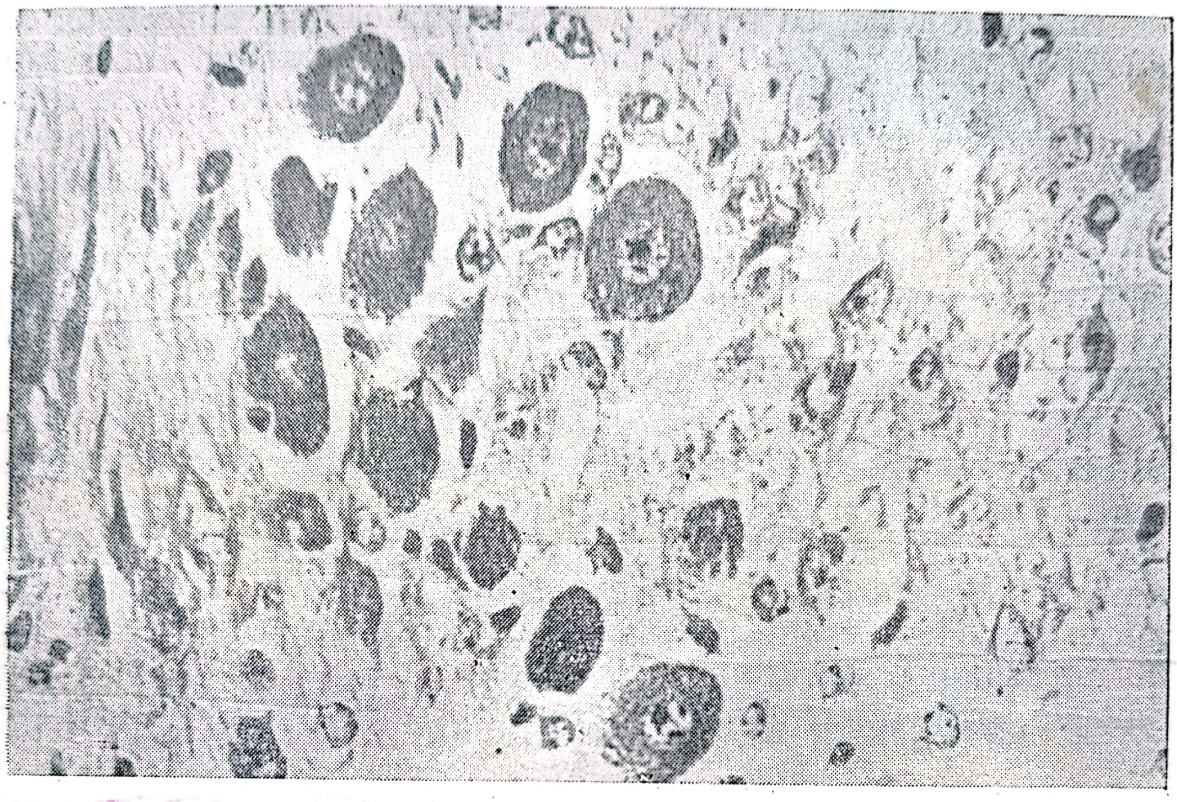
Structura chimică a nucleolului a putut fi elucidată cu ajutorul metodelor bio- și citochimice. Astfel, în interiorul nucleolilor izolați prin microdisecție din oocitul matur de pește (Mirski, 1961), a putut fi pusă în evidență prezența de ribonucleoproteine (fig. 11).

Tot în nucleol s-a pus în evidență prezența unei anumite cantități de ADN, de către O'Donnell (1961), Revell și colab. (1963), Perry și colab. (1963) și Sibatani și colab. (1962).

Echipamentul enzimatic al nucleolilor este sărac. Din numărul și așa destul de mic de enzime a căror prezență a fost semnalată pînă acum, se pare că nu au putut fi puse în evidență fără echivoc decît succinat-dehidrogeneza (De și colab., 1961) și nucleotidfosfataza, care intervine în metabolismul acizilor nucleici.

Nucleolul îndeplinește două funcții: de depozitare a ARN-ului sintetizat la nivelul cromatinei, reprezentînd astfel un fel de stație de transmisie pentru trecerea ARN-ului în citoplasmă;

Scanned with OKEN Scanner



11. Neuroni din nucleii vegetativi ai creierului de șobolan. Prezența ARN în nucleol și citoplasmă. Reacția Unna — Pappenheim, metoda Brachet (× 900)

de sintetizare a proteinelor, funcție demonstrată în acest caz de Mirski (1961).

O relație legată de funcțiile amintite mai sus ale nucleolului a fost observată de către Brachet între (1) mărimea nucleolului, (2) pironinofilia sa, care indică bogăția în ARN, și (3) sinteza de proteine.

Ribozomii nucleari. Observații mai vechi electron-microscopice au confirmat prezența în nucleu a unor granule nucleare asemănătoare cu acelea descrise de Palade în citoplasmă. Identificarea acestor formațiuni cu ribozomii și echivalarea cu corespondenții lor citoplasmatici este rodul combinării metodelor electronice cu cele biochimice de izolare și ultracentrifugare.

Studiul morfologic efectuat la microscopul electronic al ribozomilor nucleari a adus date numai asupra ribozomilor izolați și purificați cu dezoxicolat. Alfrey descrie ribozomii din nucleii

de timus de vițel ca avînd o formă sferică sau elipsoidală și mărimea medie de 100 Å, dar cu limite ce variază între 130 și 350 Å. Această variabilitate dimensională constatată cu ajutorul microscopului electronic a fost confirmată de rezultatele ultracentrifugării, constantele de sedimentare ale ribozomilor nucleari fiind 78 S, 45 S și urme de 33 S (Wang, 1963).

Ribozomii nucleari îndeplinesc aceeași funcție ca și cei citoplasmatici, reprezentînd suportul morfochimic pe care se realizează sinteza proteinelor. La nivelul acestor organite se produce sinteza proteinelor proprii nucleului.

Sucul nuclear constituie mediul chimic și enzimatic care permite menținerea și funcționarea structurilor nucleare (cromozomi, nucleol și ribozomi).

Privit în contrast de fază, sucul nuclear apare omogen, fiind antrenat de mișcările browniene ale miceliilor nucleare. În microscopia cu lumină ultravioletă, el apare nefluorescent, iar la microscopul electronic (pe secțiuni deshidratate) este neomogen, prezentînd elemente granulare dispersate sau aglomerate.

Sucul nuclear pare să fie constituit din proteine structurale, proteine enzime, ARN, lipide și uneori polizaharide (glicogen).

a) Proteinele sucului nuclear au fost clasificate de Zbarsky în trei fracțiuni: histone, care pot fi extrase cu NaCl 1 M; proteine acide, extrase cu soluție de NaOH 0,02 N; și proteine reziduale insolubile în solvenții organici obișnuiți (vezi fig. 11).

c) Un alt component important al sucului nuclear este ARN-ul. Love și Walsh (1963) deosebesc cu ajutorul testelor citochimice două tipuri de ARN: pericromozomial și paracromatinian amorf.

Lipidele nucleare au fost identificate atît prin procedee biochimice, cît și prin teste citochimice.

Sucul nuclear conține un sistem enzimatic bine reprezentat. Mirsky și Osawa (1961) împart enzimele din nuclei în două grupe mari: enzime întîlnite în nucleii majorității tipurilor celulare și enzime întîlnite mai rar, exclusiv în anumite tipuri speciale de celule, ca, de exemplu, amilaza și lipaza în nucleii celulelor pancreatice, și alcalin-fosfataza în nucleii eritrocitelor de pasăre.

În primul grup intră enzimele care participă la metabolismul energetic, ca, de pildă, aldolaza, fosfogliceroaldehid-dehidroge-

Scanned with OKEN Scanner

naza, enolaza (James, 1960) și enzimele glicolizei anaerobe, precum și enzimele ce intervin în metabolismul pentozelor (Hartman, 1953). Aceste enzime furnizează, probabil prin intermediul ATP-ului, energia necesară proceselor de sinteză din nuclei. În general, se poate spune că energia necesară proceselor metabolice din nuclei poate fi asigurată numai prin procesele care au loc în interiorul său (Hesin, 1962). Alt grup important de enzime care au fost izolate din nuclei sînt hidrolazele din grupul fosfatazelor.

De asemenea, au fost evidențiate fosfomonoesterazele nespecifice acide și alcaline, adenilatkinaza, ATP-aza, pirofosfataza, fosfatazele nucleotid specifice, fosforilazele nucleozidice etc.

O enzimă importantă, care, după Morton (1950, 1959), s-ar găsi numai în nuclei, este difosfopiridin-nucleotid-pirofosfataza.

În sfîrșit, printre enzimele care se găsesc în concentrații foarte mici putem enumera β-glucuronidaza, catalaza etc.

Sucul nuclear îndeplinește două funcții: de transportor al diferiților compuși sintetizați în organitele nucleare și de mediu de reacție al acestor compuși.

Toate datele prezentate în legătură cu structura și funcția diferiților constituenți nucleari evidențiază rolul important pe care îl joacă nucleul în funcția celulei. Nucleul apare ca principalul depozit de ADN — purtătorul material al informației genetice celulare — și deci al planului de organizare pentru structura celulei. Mesajul genetic cuprins în structura ADN-ului, ale cărui constanță și stabilitate sînt asigurate în mediul nuclear, are două modalități generale de realizare:

1. Realizarea filogenetică, în sensul reproducerii exacte a planului de organizare în mai multe exemplare (în general două), asigurînd astfel posibilitatea de diviziune celulară. Aceasta este o consecință a capacității de autoreplicare a ADN-ului.

2. Realizarea ontogenetică, în sensul guvernării sintezei constituenților structurali proprii celulei respective. Aceasta este o consecință a capacității ADN-ului de a codifica, prin intermediul ARN-m, sinteza „bateriei" de protein-enzime a celulei. Acestea participă apoi la sinteza celorlalți constituenți celulari periodici, cu rol de „schelet", ai celulei: protide, lipide,

Scanned with OKEN Scanner

polizaharide, și la efectuarea funcțiunilor plastice, furnizoare de energie, secretorii și motorii, cărora li se datorează specializarea diferitelor celule și organe.

Constituenții citoplasmatici cu rol important în realizarea mesajului genetic

Reticulul endoplasmic și microzomii sînt formațiuni subcelulare diferențiate ale substanței fundamentale a citoplasmei și reprezintă locul de sinteză a proteinelor.

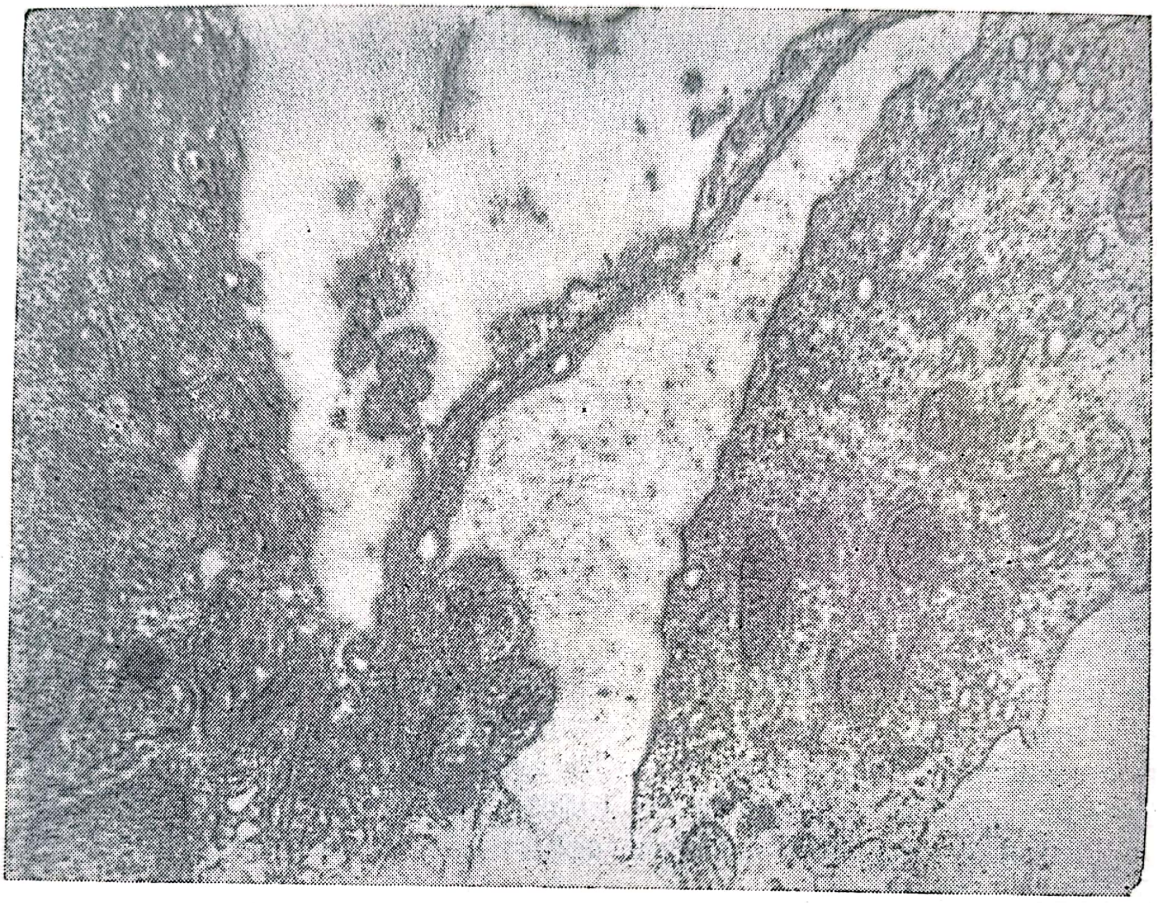
Concepția actuală asupra substanței fundamentale a citoplasmei s-a modificat foarte mult în urma cercetărilor realizate cu ajutorul microscopului electronic, cît și a folosirii celor mai noi metode biofizice și biochimice, cum sînt: marcajul cu izotopi, ultracentrifugarea, separarea și purificarea prin cromatografie etc.

Reticulul endoplasmic este constituit dintr-un sistem tridimensional de tubușoare, dilatate în unele zone sub formă de vezicule, care irigă întreaga citoplasmă, continuîndu-se, pe de o parte, cu membrana nucleară și, pe de altă parte, cu membrana citoplasmatică. El a fost evidențiat în toate celulele studiate pînă acum, cu excepția hematiilor mature.

Reticulul endoplasmic (RE) se prezintă sub forma unor tuburi lungi, care au din loc în loc niște dilatații veziculare numite cisterne. Diametrul tuburilor nu depășește 500 Å, pe cînd cel al cisternelor poate să ajungă la 2 000 Å. Aceste formațiuni sînt delimitate de o membrană continuă, a cărei grosime este de 50 Å. (Fig. 12). Continuitatea membranei este observată la toate tipurile de celule care au fost studiate, cu excepția fibrelor musculare striate. În reticulul sarcoplasmic, Clara Franzini-Armstrong (1964) descrie prezența unor arii luminoase care corespund unor pori cu diametrul de 150 Å și care sînt înconjurați de o margine densă cu grosimea de 70 Å. Aceste date arată că în reticulul sarcoplasmic, membrana limitantă apare perforată de pori, fapt pe care autoarea îl pune pe seama capacității de contracție a fibrelor musculare.

Aspectul microscopic al reticulului endoplasmic variază nu numai în funcție de tipul particular de celulă căreia aparține,

Scanned with OKEN Scanner



12. Celule alveolare pulmonare. Numeroase mitocondrii și reticulul endoplasmic de tip S tubular și vacuolar în citoplasmă. Imagine la microscopul electronic (× 14 600)

adică de la un tip de celulă specializată la altul, ci și în raport cu starea funcțională a celulelor aparținînd unui aceluiași tip, adică în limitele unui aceluiași tip specializat.

Forma granulară R (*rough*) corespunde unui reticul endoplasmic a cărui suprafață este foarte bogată în microzomi. În acest caz, microzomii se găsesc legați de suprafețele exterioare ale elementelor reticulului endoplasmic, deci la suprafața membranei limitante care le separă de faza continuă alăturată, adică de matricea citoplasmatică.

În mod obișnuit, reticulul endoplasmic asociat cu microzomii are o formă caracteristică, de lamele paralele. Particulele microzomiale asociate diferă ca formă în funcție de tipul de celulă, fiind așezate dispersat în celulele meristemului vegetal,

Scanned with OKEN Scanner

și în grupe compacte în interiorul celulelor pancreatice. Această ultimă formă corespunde în general zonelor intens bazofile din citoplasmă, demonstrate de Hagenau (1958) în cazul celulelor cu activitate de sintetizator de proteine.

Forma agranulară netedă S (*smooth*) se caracterizează prin absența microzomilor atașați de elementele reticulului endoplasmic, care capătă astfel un aspect tubular. Acest tip de reticul endoplasmic se întîlnește de obicei în celulele de susținere și în cele în care se sintetizează steroizii.

Membranele reticulului endoplasmic sînt constituite din lipide și ribonucleoproteine. Lipidele din structura reticulului endoplasmic sînt în special cefaline și lecitine, iar ribonucleinele sînt complexe de ARN cu proteine bazice.

Microzomii. În 1943, Claude a obținut prin ultracentrifugare o fracțiune conținînd niște formațiuni vizibile la microscop. Acestea au fost numite microzomi. Este marele merit al lui Palade de a fi identificat microzomii, care apăreau ca un concept biochimic, cu granulele reticulului endoplasmic, adică cu un concept morfologic și de a fi arătat că ele sînt constituite din ARN (Palade, 1952, 1955, 1956). Aceste particule observate în celulele animalelor au fost echivalate ulterior cu ribozomii din celulele bacteriene.

Microzomii se izolează din omogenate celulare prin centrifugare timp de 30′ la 20 000 g, și apoi de o oră la 100 000 g. În urma acestor ultracentrifugări ribozomii nu se prezintă ca o populație omogenă, ci ca un grup eterogen de particule care au constantele de sedimentare eșalonate pe o gamă largă, între 70 S și 100 S, și a căror greutate moleculară variază între 2,6 și $3{,}7 \cdot 10^6$. În prezența unor concentrații mici de Mg^{++}, ei disociază în subunități 50 S și 30 S. În general, ribozomii proveniți de la un tip de celulă sau bacterie au aceleași caracteristici. Ei se prezintă ca niște granule compacte, răspîndite în matricea citoplasmei sau atașate la suprafața reticulului endoplasmic. Diametrul lor variază între 150 și 210 Å (Ito, 1964). La exterior sînt înconjurați de o membrană neîntreruptă (Huxley, 1961). Microzomii au un conținut omogen, care în electronografii îi face să apară suficient de denși. Observațiile electronografice efectuate pe celule nefixate par să modifice întrucîtva imaginea pe care ne-am format-o pînă acum asupra

microzomilor. În astfel de clișee electronografice, Sjöstrand (1958, 1964) nu a observat materialul granular decît după deshidratarea țesuturilor.

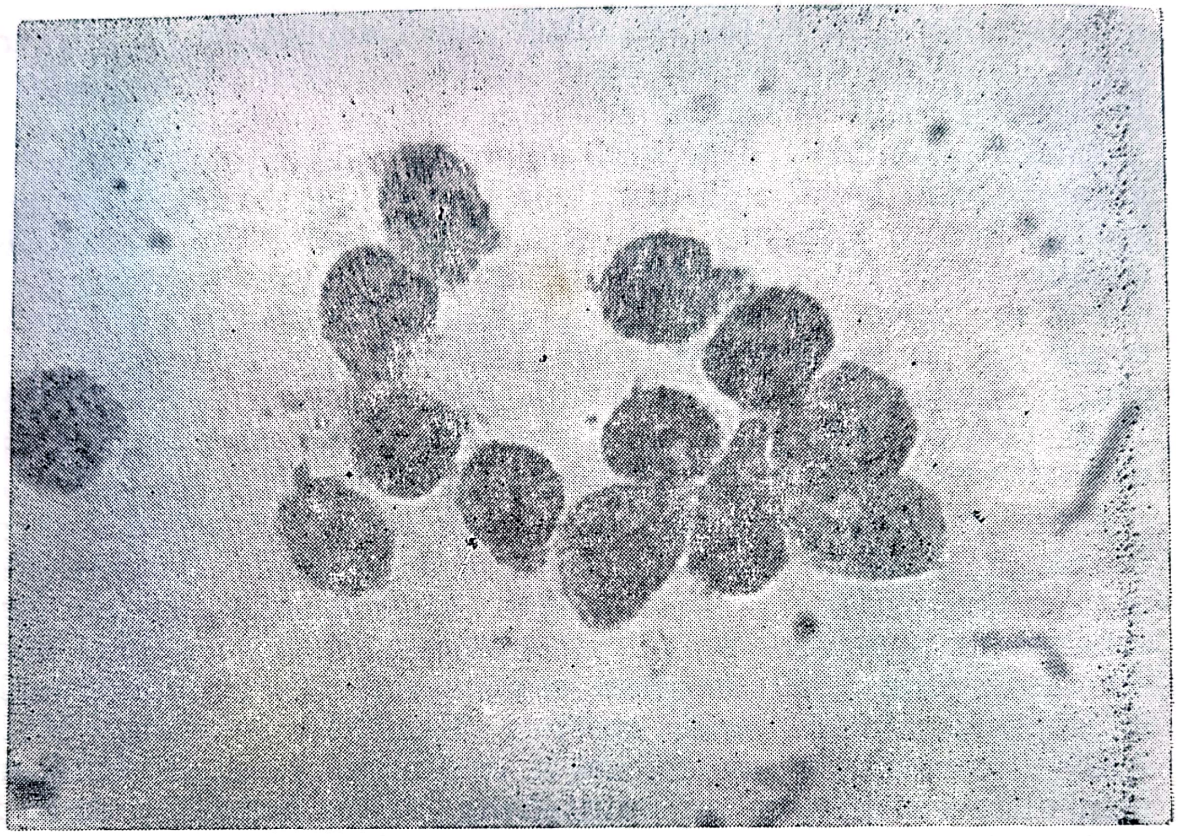
Analiza chimică a fracțiunii microzomiale obținute dintr-un gram de țesut hepatic dă următoarele rezultate: ARN = 1,41 mg pentru fiecare 3,21 mg azot, și 0,46 mg fosfor din fosfolipide (Hesin, 1962). Între proteine și ARN-ul conținut în microzomi există un raport constant chiar în cazul ribozomilor cu diferite constante de sedimentare din interiorul aceleiași specii, dar care variază de la o specie la alta. Astfel, ribozomii 30 S, 50 S. 70 S, 100 S obținuți de la *Escherichia coli* prezentau aceeași concentrație (63%) în ARN (Roberts și colab. 1962).

Proteinele din constituția ribozomilor au fost disociate electroforetic de Waler și Harris în peste 20 de componente, cu o greutate moleculară de circa 25 000. ARN-ul care apare drept constituent principal, fapt demostrat atît biochimic, cît și citochimic (Palade, 1959), se găsește atașat sub forma unor granule la suprafața membranei acestora (Ernster și colab., 1962). ARN-ul constitutiv este format și el din unități eterogene, care prin ultracentrifugare au putut fi degradate în unități mici de 16 S și 23 S, la cel provenit de la *E. coli,* sau de 18 S și 28 S, pentru cel provenit din ficat.

Conținutul în enzime al reticulului endoplasmic și al microzomilor. Fapt aparent paradoxal dacă ne gîndim la activitatea lor biochimică deosebit de intensă, aceste două formațiuni sînt relativ sărace în enzime.

Pînă acum în reticulul endoplasmic și în microzomii din ficat au fost identificate biochimic de către Ernster și colab. (1962) numai NADH—citocrom-C-reductaza, piridin-nucleotidaza, fosfataze nespecifice, citocromul b_5, glucozo-6-fosfatază, enzimele reductoare care participă la sinteza acizilor grași și a colesterolului, enzime ce catalizează sinteza acidului ascorbic, enzime de oxidare (catalaze) și cîteva enzime cu acțiune detoxifiantă. Hesin (1962) mai amintește prezența aminopeptidazei și a esterazei. Recent, Bona și Streja (1965) au reușit să evidențieze în leucocite prezența γ-glutamil-transpeptidazei, enzimă care în organele parenchimatoase se găsește localizată la nivelul microzomilor (fig. 13.).

Scanned with OKEN Scanner



3. Evidențierea γ - glutamil—transpeptidazei din microzomii leucocitelor. Reacția pentru γ - glutamil-transpeptidază, după Bona și Streja (× 900)

Singurul grup de enzime bine reprezentat în microzomi este cel care intervine în metabolismul acizilor nucleici. Astfel, prin studii biochimice (Ernster și Jones, 1962), cît și prin metode histochimice la microscopul electronic (Wachstein și Fernandez, 1964) s-a pus în evidență prezența nucleotid di- și tri-fosfatazelor. Aceste enzime acționează asupra guanozin-, uridin-, citidin- și inozin di- și tri-fosfatului, compuși cu o importanță deosebită în metabolismul acizilor nucleici.

Wachstein (1964) semnalează și o ATP-ază, prezentînd imagini deosebit de convingătoare asupra prezenței nucleotid-tri-fosfatazelor în ribozomii de la suprafața reticulului endoplasmic de tip R.

Reticulul endoplasmic și microzomii formează o unitate funcțională în viața și fiziologia celulei. Funcțiile pe care le îndepli-

Scanned with OKEN Scanner

nesc sînt variate, dar cea mai importantă dintre ele este, fără îndoială, participarea în diversele procese de sinteză:

1. Sinteza proteinelor, în care reticulul endoplasmic și ribozomii reprezintă substratul morfologic al procesului de sinteză a acestora. În general, forma R este tipul de organizare morfologică ce corespunde acestui proces. În schema complexă a sintezei proteinelor, care au un determinism genetic bine definit, ribozomii reprezintă o componentă aparent inertă din punctul de vedere al specificității de sinteză, care în acest caz se datorește ARN-m.

2. Rolul de inhibiție a sintezei ARN-ului pe care îl are fracțiunea microzomială. Această proprietate a fost demonstrată prin inhibarea creșterii celulelor de ascită Ehrlich, atunci cînd sînt tratate cu microzomi din splină, ficat și rinichi. Gancevici și colab. (1964), care au descris acest fenomen, conchid că el s-ar datora inactivării reductazei endogene.

3. Sinteza unor compuși lipidici care apar în special în reticulul endoplasmic de tip S.

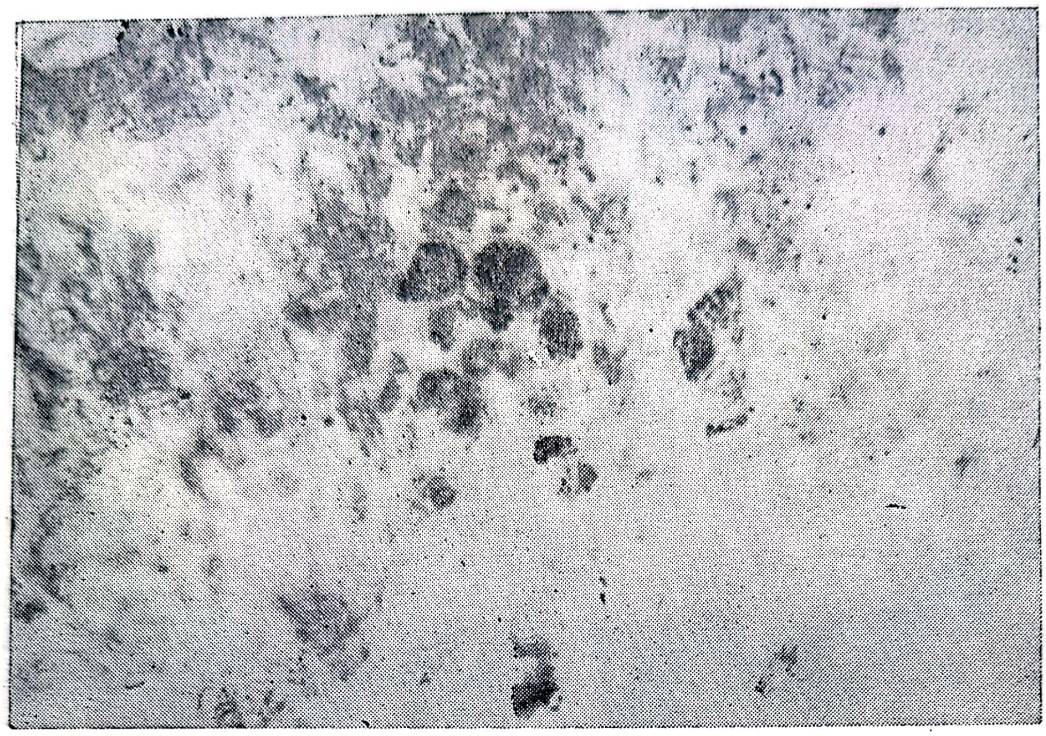
4. Transportul intracelular. Reticulul endoplasmic ar reprezenta un vast sistem canalicular aparținînd citoplasmei, care face posibilă circulația internă a diferitelor molecule. Una din cele mai importante dovezi în acest sens a fost adusă de Palade (1962). El a demonstrat că proteinele-enzime sintetizate la nivelul ribozomilor traversează canaliculele sub forma unor granule mari, care se condensează la nivelul aparatului Golgi.

Mitocondriile sînt organite citoplasmatice alcătuite din două membrane lipoproteice și o matrice în care se găsesc criste (fig. 14).

Aceste organite conțin cea mai mare parte din enzimele interesate în procesele respiratorii și furnizoare de energie (fig. 15,16). Pînă nu de mult, mitocondriile au fost considerate ca un organit cu rol strict metabolic. Totuși, recent s-a demonstrat, atît cu ajutorul microscopului electronic (Nass și colab., 1962, 1963), cît și prin determinări microchimice (Kalf, 1964), prezența unei cantități de ADN a cărui capacitate de replicare și rol în sinteza proteinelor sînt binecunoscute.

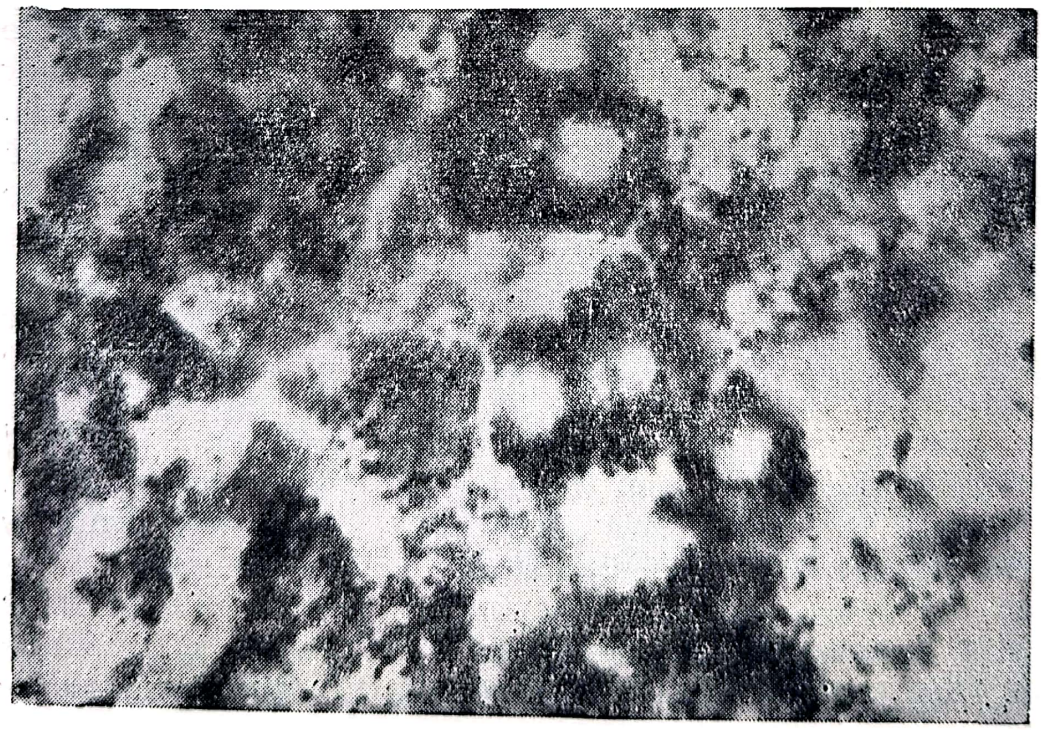
Cu toate că datele pe care le avem în prezent la dispoziție nu lămuresc exact care este activitatea particulară a ADN mitocondrial, deși s-a demonstrat participarea lui la sinteza protei-

Scanned with OKEN Scanner

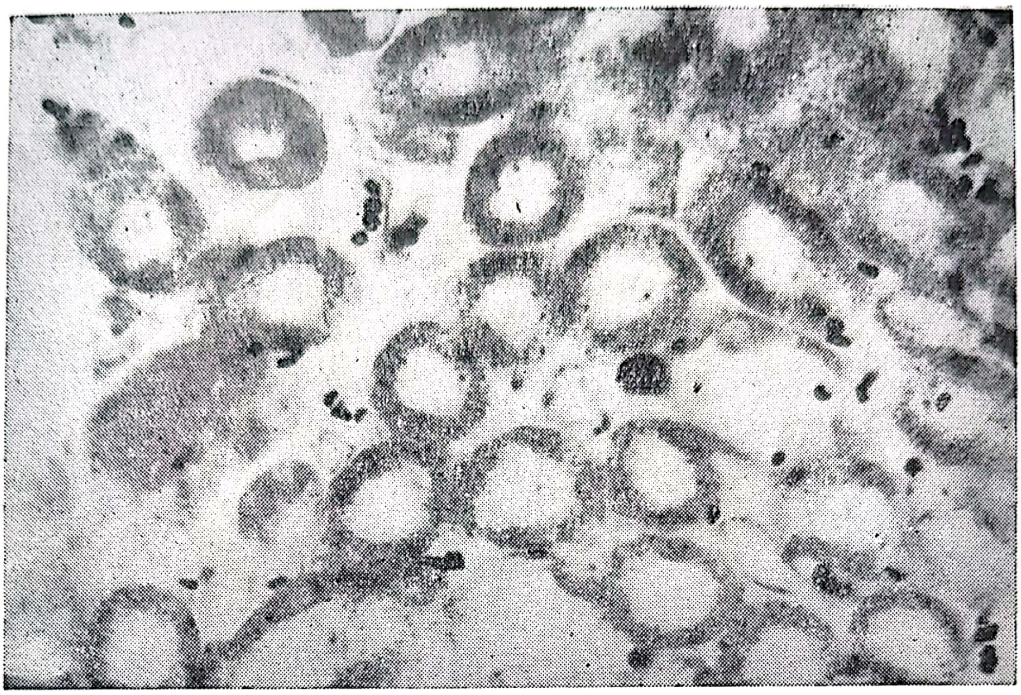


14. Macrofage în septul pulmonar a căror citoplasmă este burată de granule de citocromoxidază, localizate la nivelul mitocondriei. Tehnica pentru citocromoxidază, după Moog (× 400)

15. Evidențierea componenței fosfolipidice din structura mitocondriilor hepatocitelor. Reacția Baker (× 900)

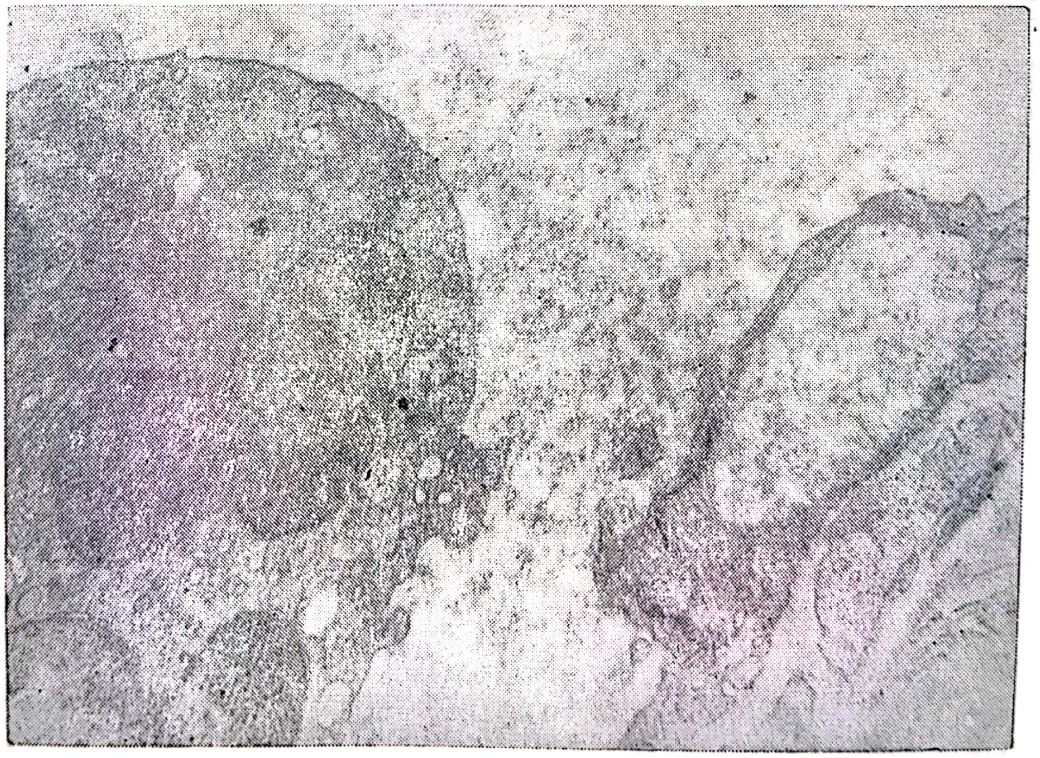


Scanned with OKEN Scanner

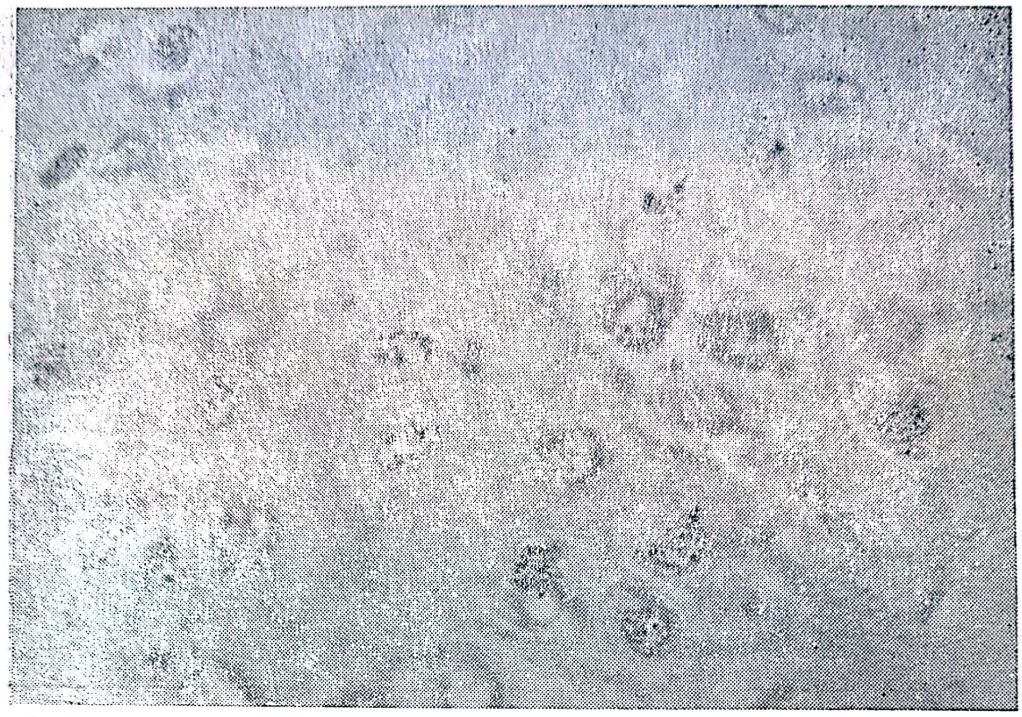


16. Evidențierea succinat-dehidrogenazei din mitocondriile tubilor drepți din rinichi. Reacția pentru succinat-dehidrogenază, după Pearse (× 900)

17. Granulațiile specifice corespunzătoare lizozomilor din leucocitul antrenat în procesul de pinocitoză al toxinelor. Imagine la microscopul electronic (× 9000)



Scanned with OKEN Scanner



18. Acid-fosfataza în lizozomii din condrocitele zonei hipertrofice a cartilagiului de creștere din sindromul Turner. Tehnica pentru acid-fosfatază, metoda de post cuplare azo, după Burstone (× 400)

19. Proteinele din structura fibrei musculare netede. Reacția cu ninhidrină, metoda Bona (× 900)

Scanned with OKEN Scanner

nelor (Kalf, 1964), ele ar putea furniza una din explicațiile participării aparente a citoplasmei la transmiterea caracterelor ereditare.

Reproducerea celulară

Autoreproducerea este proprietatea specifică a structurilor vii. De aceea, problema modului în care se realizează acest proces prezintă un interes primordial.

În general, este vorba de o dublare a cantității de material purtător de informație genetică și de repartizarea lui egală între cele două structuri-fiice. Evident că în cadrul marii variabilități biologice s-a ajuns la o multitudine de soluții „permise" de jocul mutație-selecție, în măsura în care ele prezentau avantaje selective.

Purtătorul material al informației genetice este ADN. În general, acesta se găsește împachetat în histone, în interiorul unei substructuri celulare diferențiate, colorabilă prin metoda Feulgen-Rossenback, numită cromatină. Întreaga cantitate de material purtător de informație genetică pe care o conține celula constituie genomul acesteia. Fără a aborda discuția dificilă a problemei identității dintre genom și cromatină (ADN și histone), identitate pe care o vom considera, totuși, provizoriu, ca adevărată, și fără a enumera toate formele citologice de existență ale materialului genetic, ținem să subliniem că substanța cromatică apare la microscop, în mai tot timpul vieții celulei, ca răspîndită difuz și dezordonat în interiorul nucleului. Faptul că ea ar fi organizată sub forma unei rețele sau constituită dintr-un singur fir neîntrerupt, foarte lung, aderent de fața internă a membranei nucleare și ale cărui suprapuneri în planuri diferite dau iluzia optică a rețelei amintite mai sus, sau că ea ar fi constituită din mai multe fire, incomplet discriminabile prin mijloacele de observație optică, nu a fost încă definitiv lămurit.

În orice caz, în cea mai mare parte din viața celulei, substanța cromatică pare stabilizată în aceeași stare în nucleul inactiv. Apoi, în curs de cîteva ore, nucleul prezintă un număr

Scanned with OKEN Scanner

de modificări destul de spectaculoase, care culminează cu diviziunea celulei.

Acest „ciclu de evoluție" caracteristic vieții tuturor celulelor a fost interpretat ca oglindind realizarea alternativă a celor două funcții fundamentale: metabolismul și reproducerea. Reamintim, totuși, cu această ocazie că există o zonă de suprapunere reală între domeniile de definiție ale acestor două concepte atît de distincte la prima vedere.

De aci s-a tras însă mai de mult concluzia, profund greșită, că „repausului morfologic" sau, mai corect, „vizibil la microscop" al nucleului, îi corespunde un repaus funcțional real, *de unde, la rîndul său, a generat eroarea și mai gravă de a se afirma dezagregarea și dispariția substanței cromatice organizate* între două diviziuni ale aceleiași linii celulare, sau *considerarea cromozomilor ca un artefact.*

Toate rezultatele mai recente au dovedit falsitatea acestor deducții. Astfel, s-a demonstrat că în cursul perioadei de „repaus nuclear aparent", care corespunde perioadei de viață „vegetativă" a celulei, numită *interfază,* materialul cromatinic nuclear își menține la început cantitatea neschimbată (perioada G_1*), apoi își dublează substanța activă (perioada S**) de sinteză a ADN-ului și rămîne la acest nivel cantitativ (perioada G_2) pînă în momentul reproducerii (M***).

În orice caz, într-un anumit moment al vieții celulei, substanța cromatică intranucleară (cromonemele) începe să se condenseze și apoi să se fragmenteze în corpi filiformi spiralați, numiți *cromozomi.*

Numărul acestora este întotdeauna constant, caracteristic pentru fiecare clonă celulară****. Un macroorganism este considerat, din acest punct de vedere, ca o clonă al cărei „cap" este oul din care provine. Toți indivizii unei specii conțin același număr de cromozomi în toate celulele.

---

* *G* = prescurtarea cuvîntului englezesc *gap* = lacună sau interspațiu (sensul biologic = lacună de sinteză).

** *S* = prescurtarea cuvîntului *synthesis* = sinteză (sensul biologic = sinteză ADN).

*** *M* este prescurtarea cuvîntului *mitosis* = mitoză.

**** Prin clonă se înțelege mulțimea descendenților unei celule rezultați prin reproducere asexuată.

Scanned with OKEN Scanner

Remarcăm cu această ocazie că în cazul organismelor monocelulare, al căror material genetic provine de la o singură sursă (celula-mamă), toți cromozomii alcătuiesc o singură „garnitură" din punctul de vedere al originii, numărul lor, indiferent dacă este par sau impar, fiind notat cu litera n. Aceste ființe se numesc *haploide*.

În cazul organismelor pluricelulare cu reproducere sexuată genomul este alcătuit din două garnituri de cromozomi omologi*, cîte una de la fiecare din cei doi părinți. Formula cromozomică a acestor organisme, numite diploide, va fi notată cu $2n$.

Starea haploidă se consideră ca normală, euploidă, pentru monocelulare și pentru celulele sexuale (gameții) ale pluricelularelor. Starea diploidă este normală pentru toate celulele somatice ale ființelor pluricelulare.

S-au mai descris și cazuri, toate anormale (aneuploidii), de poliploidie totală ($3n$ = tripolidie, $4n$ = tetraploidie etc.) sau parțială ($2n + 1$, $2n - 1$, $3n + 1$ etc.), numită heteroploidie.

Mitoza

Momentul cînd substanța cromatică începe să se condenseze și să se fragmenteze în cromozomi inaugurează ciclul de reproducere al celulei, adică mitoza.

Prima perioadă a acesteia, de altfel și cea mai lungă, a fost numită *profază*. Aceasta se subîmparte, la rîndul ei, în: profaza timpurie, profaza mijlocie și profaza tardivă.

Profaza timpurie, în care cromozomii abia apăruți arată ca o masă de fire separate, așezate de-a valma în sucul nuclear. În preparatele bune se observă că fiecare cromozom este alcătuit de fapt din două fire delicate, care sînt spiralate în mod neregulat, unul în jurul celuilalt, formînd cromatidele (cromatidă = cromonemă + matricea sa condensată).

Imaginea pe care o dau în această perioadă cromatidele înfășurate între ele sugerează un șirag de mărgele; aceste îngroșări se numesc *cromomere*.

* Cei doi membri ai fiecărei perechi sînt cel puțin foarte asemănători, dacă nu chiar identici din punct de vedere morfologic.

Scanned with OKEN Scanner

Fiecare cromozom conține, undeva pe lungimea lui, o structură necolorabilă, bine individualizată, numită *centromer*. Nefiind aproape niciodată terminali, centromerii împart cromozomii respectivi în cîte două brațe, fiecare avînd cîte o porțiune proximală și alta distală.

Profaza mijlocie. Treptat, cromozomii continuă să se retracteze și să se îngroașe, determinînd astfel desfășurarea treptată a cromatidelor.

Simultan cu aceasta, nucleolii, care la început păreau asociați cu unii cromozomi, încep să diminueze ca volum, iar alături, în citoplasmă, are loc diviziunea unui alt corpuscul mic — centrozomul. Cei doi corpusculi rezultați din acesta migrează imediat spre cei doi poli opuși ai celulei, de unde încep să dezvolte, unul către celălalt, fibre radiare, care ulterior vor alcătui fusul.

Menționăm că în natură există o largă variabilitate a centrozomilor. Astfel, existența acestora este limitată la celulele animale și la o parte din plante. De asemenea, momentul în care își încep diviziunea variază de la specie la specie. Uneori diviziunea are loc chiar la sfîrșitul diviziunii precedente.

Celulele lipsite de centrozomi se divid anastral, spre deosebire de cele cu centrozomi, care se divid astral.

În *profaza tardivă* începe „topirea" membranei nucleare și se desăvîrșește dispariția nucleolilor. În schimb, cromatidele, care s-au îngroșat și densificat la maximum, încep să se miște pentru prima oară. Mobilitatea lor se datorește motilității active a centromerilor; brațele sînt „antrenate" de către aceștia în direcția fusului.

Migrațiunea cromozomilor către fus are loc independent de pozițiile lor relative inițiale, astfel încît, la sfîrșitul profazei, toți centromerii se găsesc în planul ecuatorial al fusului.

Întrucît mobilitatea brațelor cromozomilor este strict pasivă, ele fiind „antrenate" numai de către centromerii în mișcare, poziția lor poate fi oricare, atît în cursul deplasării, cît și după oprirea în planul ecuatorial.

Metafaza este faza mijlocie a mitozei, în care fibrele fusului se întind de-a curmezișul celulei, de la un centrozom la altul, iar unele dintre ele se asociază cu centromerele pe care le fixează.

Scanned with OKEN Scanner

Cromozomii aflați în planul ecuatorial al celulei, unde formează placa metafizică sau ecuatorială, sînt „desfăcuți" la maximum și oferă observatorului cea mai bună imagine a lor, permițînd astfel cea mai corectă numărare. Configurația particulară a lor din acest moment este considerată ca furnizînd una din cele mai bune caracterizări ale celulei și deci a liniei și speciei din care aceasta face parte.

În tot timpul metafazei, cromatidele pereche, aparținînd unui singur cromozom, rămîn lipite una de alta printr-un singur punct, centromerul, cozile lor fiind deja libere.

În *anafază* centromerele se rup în două și fiecare segment migrează împreună cu semicromozomul (cromatida) care i-a rămas atașat spre centrozomul corespunzător. Cu această ocazie, fiecare cromatidă devine un nou cromozom monocromatidic.

Am văzut mai înainte că, încă din timpul interfazei, s-a produs o dublare a cantității de ADN, astfel încît fiecare cromatidă va avea alături o altă cromatidă potențială sau cromonemă.

În cursul profazei și al metafazei, cromozomul, deși replicat deja din punct de vedere chimic, părea alcătuit numai din două cromatide; vedem acum că din punct de vedere chimic era vorba de patru subunități: două cromatide propriu-zise și două semicromatide invizibile la microscop, deoarece erau strîns lipite de cromatidele lor surori deja realizate.

Așadar, în cursul anafazei cromozomii sînt numai aparent monocromatidici, ei fiind alcătuiți în realitate din două cromatide surori, una deja realizată și alta abia potențială (cromonemă).

Știind acest lucru, nu ni se va mai părea curios faptul că în cursul următoarei faze, *telofaza*, deși nu are loc nici o sinteză de ADN, cantitatea de substanță cromatică crește prin maturarea cromonemelor în cromatide.

Totuși, în același timp, în cursul telofazei începe să aibă loc o succesiune de evenimente inverse celor descrise cu ocazia profazei. Astfel, fusul de diviziune se dezintegrează, membranele nucleare nou formate îmbracă cele două seturi de cromozomi-fii, iar un șanț de clivaj începe să separe, pornind de la citoplasmă, celula-mamă în cele două celule-fiice rezul-

Scanned with OKEN Scanner

tate. În acest timp, nucleolii reapar, iar cromatidele-surori, ce alcătuiesc noii cromozomi, se alungesc și se subțiază treptat.

Începe noua *interfază* pentru cele două celule-fiice. După cum am văzut, mitoza este un tip de diviziune care „păstrează constant" gradul de „ploidie", în sensul că produce descendenți care au aceeași ploidie cu celulele lor de origine (o celulă haploidă → două celule haploide; o celulă diploidă → două celule diploide).

Dacă acest lucru este normal în cazul reproducerii de tip clonal, caracteristică monocelularelor și celulelor somatice ale ființelor pluricelulare, el ar avea consecințe grave în cazul reproducerii sexuate, în sensul că ploidia s-ar dubla cu ocazia fiecărei generații. Astfel, din fuziunea a două celule n rezultă $2n$; din fuziunea a două celule $2n$ rezultă o descendentă $4n$ etc. Aceasta este explicația faptului că reproducerea sexuată care, după cum vom vedea mai tîrziu, reprezintă un progres enorm pe scara evolutivă (deoarece permite „recombinarea", în cursul filogeniei, a caracterelor „avantajoase" provenind de la două surse), implică la un moment dat o reproducere celulară de tip special, cu reducerea la jumătate a numărului de cromozomi.

Celulele rezultate, posedînd ploidia inițială înjumătățită, se numesc gameți. Din fuziunea a doi gameți cu polarități (sexe) opuse rezultă zigotul (oul), „capul de clonă" al noului organism pluricelular.

Meioza

Diviziunea reducțională, *meioza*, are loc la un anumit moment din viața organismului sexuat. La majoritatea animalelor, meioza cuprinde ultimele două diviziuni nucleare înainte de formarea spermatozoidului sau a ovulului matur, în timp ce la plante momentele efectuării ei sînt foarte diferite. Meioza se efectuează în două cicluri de diviziune succesivă. Pentru a nu intra în prea multe amănunte de citogenetică, vom încerca să ne-o imaginăm tot ca pe o mitoză, dar în care factorii ce determină nucleul să se dividă intervin mai devreme, adică

Scanned with OKEN Scanner

înainte de momentul în care cromozomii au atins gradul de înfășurare observat în profaza mitotică și *înainte* ca substanța lor activă, ADN-ul, să fi replicat.

Să vedem care este succesiunea reală a evenimentelor meiotice.

Timpii meiozei

Prima diviziune. Profaza I este mult mai lungă decît profaza mitotică, în sensul că începe mai devreme. Ea se subîmparte în cinci perioade: leptoten, zigoten, pachiten, diploten, diakinesis.

În leptoten, cromozomii, prezentînd cromomerele foarte evidente, apar alcătuiți doar dintr-o singură substructură (cromatidă).

În zigoten cromozomii omologi se alătură unul de altul, punct corespunzător cu punct corespunzător. Împerecherea este atît de exactă, încît se poate verifica chiar pentru fiecare cromomer în parte. Ea se observă încă și mai bine în cazul deleţiilor, unde cromozomul „fără deleție" face o buclă în locul unde vecinului îi lipsește un segment.

Pînă în prezent nu se cunoaște cauza acestui mod de împerechere al cromozomilor. Una dintre cele mai seducătoare ipoteze incriminează anumite forțe de atracție ce s-ar datora configurației de rezonanță ce rezultă din structura moleculară specifică a fiecărui segment de cromozom. Faptul că în cazul mitozei ADN-ul a replicat încă din interfază face ca aceste forțe să se consume ținînd alăturate cele două cromatide-surori, în timp ce, în cazul meiozei, unde cromozomii sînt încă monocromatidici, aceste forțe rămîn disponibile pentru a acționa asupra cromozomului omolog.

În pachiten, datorită asocierii tot mai intime a cromozomilor pereche, pare că aceștia fuzionează între ei, rezultînd deci o înjumătățire numerică aparentă, însoțită de o evidentă îngroșare și scurtare a acestor formațiuni, care se numesc bivalenți.

Scanned with OKEN Scanner

În diploten perechile încep să se desfacă; fiecare din partenerii (cromozomii) eliberați este acum în mod evident alcătuit din două cromatide. Pe de altă parte, cromatidele omologe tind și ele să se separe, deși mai sînt încă solidarizate în diferite puncte, numite chiasme.

O chiasmă este rezultatul ruperii, într-un anumit loc, a două cromatide și a resudării încrucișate a capetelor lor, unul în locul celuilalt. Acest proces, cunoscut sub numele de *crossing-over*, explică o bună parte din fenomenologia genetică. Subliniem cu această ocazie că producerea unei chiasme într-un anumit punct pe un cromozom reduce enorm probabilitatea producerii unei alteia în vecinătate („interferența" chiasmelor).

În diakinesis, bivalenții se depărtează mult unii de alții și tind să se alăture, fiecare în partea lui, feței interne a membranei nucleare.

Metafaza I cuprinde formarea, ca și în cazul mitozei, a fusului de diviziune și migrarea cromozomilor spre ecuatorul acestuia. Membrii fiecărei perechi de centromeri, încă nedivizați, ai unui bivalent se așază simetric, unul de o parte, iar celălalt de altă parte a ecuatorului.

Deplasarea centromerilor spre cei doi poli ai celulei se desfășoară, de asemenea, simetric. Chiasmele persistă încă.

Anafaza I cuprinde separarea cromozomilor și, implicit, ruperea chiasmelor. Cu această ocazie se definitivează schimbul de substanță dintre cromozomii materni și paterni, realizat prin *crossing-over*.

Telofaza I cuprinde refacerea membranelor nucleare. Cele două celule-fiice au, fiecare, cîte un nucleu cu un număr haploid de cromozomi bicromatidici, conținînd cîte un singur centromer.

Diviziunea a doua urmează, în general, nemijlocit, fără interfază intercalată. Ea se produce ca o mitoză obișnuită, care menține constant numărul, de data aceasta haploid, de cromozomi.

În concluzie, se poate spune că *meioza unei celule diploide*, spermatocit sau oocit primar, realizează, în două diviziuni succesive, mai întîi doi descendenți haploizi și apoi patru descendenți haploizi, gameții (4 spermatozoizi sau 1 ovul + eliminare de globuli polari).

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

Alfrey, G. A., „Expl. Cell. Res.", suppl. 9, 1963, 183—212.

Berhard, W., A. Bauer, A. Grapp, F. Hagneanu, Ch. Oberleny, „Expl. Cell. Ress"., suppl. 9, 1955, 88.

Bloch, D. P., „J. Histochem, and Cytochem". 10, 1962, 137.

Idem, „J. of Cell. and. Comp. physiol.", 62, suppl. 2, 1963, 47.

Bona, C. V. Stănescu, M. Dumitrescu, V. Ionescu, Gr. Ghyka, „Acta Histochem", 21, 1965, 98—119.

Bona, C., M. Dumitrescu, Gr. Ghyka, I. Ernest, „Medicina int.", 16, 1964, 493—504.

Bona, C., L. Mesrobeanu, „Arch. roum. pathol. exper. et microbiol", 22, 1963, 1031—1038.

Bona, C., M. Pitiș, V. Stănescu, V. Ionescu, „Acta Histochem", 18, 1964, 295—316.

Brachet, J., Embryologie chimique, Masson, Paris, 1940.

Busch, H., W. J. Sterle, L. S. Huilica, Ch. W. Taylor, J. Cell. and Comp. Physiol.", 62, suppl. 1, 1962, 95.

Claude, A., „Science", 97, 1943, 451—456.

De P. R. Chatergee, S. Mitra, „Nature", 161, 4791, 1961, 925.

O'Donnell, E. H. J., „Nature", 1961, 191, 4795, 1325.

Ernster, L., Ph. Siekcitz, G. E. Palade, „J. of Cell. Biol.", 15, 1962, 541—561.

Ernster, L., L. C. Jones, „J Cell. Biol.", 15, 1962, 563.

Feldherr, C. H., „J. Cell. Biol.", 14, 1962, 65.

Gancevici, G., I. Stoian, M. Dima, R. Crainic, „Naturwissenschaft", 51, 1964, 66.

Hartman, K. U., „Biochem. Z.", 331, Heft 2, 1953, 110—116.

Hesin, R. B., *Biochimia citoplasmei*, Editura Medicală, București, 1962.

Huxley, H. F., C. Zubay, „J. Biophys. and Biochem, Cytol.", 11, 1961, 273.

Ito, S., „J. Biophys. and Biochem. Cytol.", 11, 1961, 333—347.

James, J., „Expl. Cell. Res.", 21, 1960, 205.

Jacob, J., J. L. Sirlin, „J. Cell. Biol.", 17, 1963, 153.

Kalf, G. F., „Biochem.", 3, 1964, 1702.

Marinozzi, V., W. Berhard, „Expl. Cell. Res.", 32, 1963, 595—598.

Meck, G. A., M. Y. Mosses, „J. Biophys. and Biochem. Cytol.", 10, 1961, 121.

Scanned with OKEN Scanner

3

Bazele moleculare ale eredității

Existența în natură a unui suport material al „specificării" biologice

Ființele vii nu sînt în fond altceva decît niște structuri materiale extrem de complicate, capabile să-și păstreze tot timpul vieții individualitatea. Mai mult decît atît, ele sînt capabile să „construiască" descendenți cărora le transmit *același plan de organizare*.

Marea complexitate a acestuia, cît și acuratețea extremă cu care el este *specificat* pentru fiecare individ în parte reprezintă motivele reale care au obligat pe toți cercetătorii de valoare din istoria recentă a biologiei să-și pună problema existenței în natură a unui substrat material al specificării biologice.

Existența acestui substrat material al specificității ființelor vii și posibilitatea de a-l transmite ereditar, a fost postulată, la început numai sub formă de ipoteză, încă din secolul al XIX-lea, asociindu-i-se diverse denumiri, care corespundeau, fiecare, imaginii pe care și-o formase despre ele autorul respectiv: gemule (Darwin), micele (Nägeli), ide, idante, determinanți, biofori (Weismann) și, în sfîrșit, gene (Johanssen).

Acest ultim nume s-a bucurat, încă de la început, de o acceptare largă din partea majorității autorilor din primele două decenii ale secolului al XX-lea și a fost definitiv consacrat în cursul deceniilor trei și patru, grație lucrărilor temeinice ale școlii lui Morgan și a influenței covîrșitoare pe care acestea au exercitat-o asupra evoluției geneticii ca disciplină exactă.

Cu această ocazie s-au dedus multe din proprietățile esențiale ale genelor, printre care menționăm: localizarea lor cromozomică; faptul că sînt unități morfofuncționale discontinue; unele din particularitățile „exprimării lor fenotipice"; modul de recombinare și de transmitere la descendenți; măsura în care există sau nu vreo interdependență între activitățile diferitelor gene particulare și chiar descrierea concretă a funcției și poziției relative a unor gene particulare.

Scanned with OKEN Scanner

Apoi, în decurs de nouă ani, patru evenimente cruciale au pregătit drumul geneticii moderne:

1. În 1941, Beadle şi Tatum au arătat că *fiecare genă specifică cîte o singură proteină* (avînd sau nu proprietăţi enzimatice) şi numai pe ea. Deci, specificarea biologică se reduce la faptul că o anumită baterie (grupare) de gene specifică o anumită baterie de enzime proteinice, care, la rîndul său, specifică o anumită grupare de proprietăţi, şi anume caracteristicile individualităţii fiinţei respective.

2. În 1944, Avery, Mc Leod şi Mc Carthy au demonstrat, fără echivoc, *natura chimică* a materialului genetic: „acid dezoxiribonucleic", identificînd compoziţia „factorului transformator" al lui Griffith.*

3. În 1948, Shannon formulează „teoria informaţiei" ca instrument pentru studierea calitativă şi, mai ales, *cantitativă* a specificării, stabilind regulile precise prin care o anumită diversitate poate fi codificată, în mod univoc, prin altă diversitate.

4. În sfîrşit, în 1953, J. D. Watson şi F. H. Crick descriu structura moleculară a acizilor nucleici, permiţînd astfel abordarea fenomenologiei genetice la nivelul ei intim.

Începînd din acest moment, care a marcat constituirea definitivă a geneticii ca ştiinţă pozitivă, determinismul specificării biologice a putut fi explorat în mod riguros. S-a stabilit astfel că acidul dezoxiribonucleic (ADN) *păstrează ca atare* întreaga cantitate de informaţie genetică a fiecărei celule, pe toată durata vieţii ei, şi *este capabil să o transmită „în copie"*, după necesităţi, atît mecanismelor proteino-sintetizatoare ale celulei respective, determinînd specificitatea sintezei de ARN (funcţia

*În 1928, Griffith inoculase la şoareci o suspensie de pneumococi vii, de tip serologic II, forma R (incapabili să omoare şoarecele, întrucît erau nevirulenţi), simultan cu o altă suspensie de pneumococi omorîţi, de tip serologic III, forma S (această suspensie era de asemenea incapabilă să omoare, singură, animalele de experienţă, întrucît germenii, deşi virulenţi, fuseseră omorîţi).

Spre surprinderea autorului, animalele s-au îmbolnăvit totuşi, iar din cordul lor au fost izolaţi pneumococi vii, *virulenţi şi de tip III, forma S.*

Experienţa de mai sus, repetată apoi in vitro, a dat invariabil acelaşi rezultat. Factorul „inductor" al acestei transformări, ce era conţinut în suspensia de pneumococi omorîţi, a fost identificat în 1944 de către Avery şi colaboratorii ca fiind ADN.

Scanned with OKEN Scanner

heterocatalitică a ADN-ului), cît și celulelor-fiice, determinînd specificitatea sintezei de ADN-filial (funcția autocatalitică a ADN-ului).

De asemenea, s-a precizat modul în care acizii ribonucleici (ARN) participă la funcționarea mecanismelor proteino-sintetizatoare ale celulei, *transmițînd* informația conținută în ADN, pe care au „copiat-o" în timpul formării lor, lanțurilor polipeptidice și, implicit, proteinelor în curs de sinteză.

Proteinele și enzimele astfel sintetizate contribuie la realizarea caracteristicilor morfofuncționale ale structurii vii din care fac parte.

Structura chimică a materialului genetic. Acizii nucleici

Informația genetică este purtată, depozitată și transmisă de către moleculele acizilor nucleici. Se cunosc, pînă în prezent, următoarele tipuri de acizi nucleici: acidul dezoxiribonucleic (ADN) și acizii ribonucleici (ARN). Aceștia din urmă există în celulă sub trei forme: acid ribonucleic-mesager (ARN-m); acid ribonucleic de transfer (ARN-t); și acid ribonucleic ribozomal (ARN-r).

Din punct de vedere chimic, acizii nucleici sînt macromolecule construite prin copolimerizarea* mai multor tipuri de monomeri, denumiți, în mod generic, nucleotizi.

Un astfel de monomer este constituit din trei componente, și anume: un radical fosforic monoacid (PO_4H^{--}), un zahăr cu cinci atomi de carbon (β-D-riboză sau β-D-2-dezoxiriboză) și o bază azotată, pirimidinică sau purinică.

Bazele pirimidinice au molecula mai mică, alcătuită dintr-un singur heterociclu aromatic cu patru atomi de carbon în pozițiile 2, 4, 5 și 6 și cu doi atomi de azot în pozițiile 1 și 3. Pînă în prezent se cunosc: uracilul (U) = 2,6-dioxi-pirimidină; timina (T) = 2,6-dioxi-5-metil-pirimidină (5-metil-uracil); citozina (C) = 2-oxi-6-aminopirimidină; metilcitozina (5MC = 2 oxi-5-metil-6-amino-pirimidină; 5-hidroximetil-citozină (5HMC) = 2-oxi-5-hidroximetil-6-amino-pirimidină.

* Macromoleculele alcătuite din monomeri de un singur tip se numesc homopolimeri, iar cele alcătuite din monomeri de mai multe tipuri; așa cum se întîmplă în cazul acizilor nucleici, se numesc copolimeri.

Scanned with OKEN Scanner

Dintre acestea, primele două sînt capabile să stabilească cîte două punți de hidrogen cu o eventuală purină corespunzătoare (de exemplu adenina) așezată la o distanță de aproximativ 2,9 Å, iar ultimele trei pot stabili cîte trei legături de acest tip cu purina corespunzătoare lor (de exemplu guanina).

Bazele purinice au molecula mai mare, alcătuită dintr-un dublu heterociclu imidazolo-pirimidinic, care provine din condensarea unui inel pirimidinic cu unul imidazolic, și are atomii de carbon așezați în pozițiile 2, 4, 5, 6, 8 și pe cei de azot așezați în pozițiile 1, 3, 7 și 9.

Dintre bazele purinice fac parte: adenina (A) = 6-aminopurină, capabilă să stabilească două punți de hidrogen cu o eventuală pirimidină corespunzătoare, așezată la o distanță de 2,9 Å și guanina (G) = 2-amino-6-oxi-purină, care poate stabili trei punți de hidrogen cu o eventuală pirimidină (în condițiile mai sus arătate).

În mod obișnuit, pentoza (dezoxiriboză sau riboză, după caz) se leagă de baza azotată (pirimidină sau purină) printr-o legătura N-glucidică, care se stabilește între C_1 al celei dintîi și N_3 al ultimei, dacă aceasta e pirimidină, sau între C_1 al celei dintîi și N_9 al ultimei, dacă este purină, alcătuind un *nucleozid*.

În funcție de pentoza și de baza azotată care le compun, nucleozidele se vor încadra în una din următoarele categorii:

- A. *Dezoxiribonucleozide*
  - pirimidinice
    - — dezoxitimidină (timidin dezoxiribozid)
    - — dezoxicitidină (citidin dezoxiribozid)
  - purinice
    - — dezoxiadenozină (adenin dezoxiribozid)
    - — dezoxiguanozină (guanin dezoxiribozid)
- B. *Ribonucleozide*
  - pirimidinice
    - — uridină
    - — citidină
  - purinice
    - — adenozină
    - — guanozină

Adiționarea de către un nucleozid a unui radical fosforic, de care se leagă prin intermediul C_5, C_3 sau C_2 ai pentozei

are ca rezultat formarea unui *nucleotid*. Se pare că nucleotizii naturali sînt esteri 5′-fosforici.

Vom deosebi deci, conform aceluiași criteriu ca mai sus, următorii nucleotizi:

- A. *Dezoxiribonucleotizi* (dezoxinucleotizi, dN)
  - pirimidinici
    - *Acid dezoxi-timidilic* sau dezoxi-timidin-monofosfat (dTMP) = (dezoxi-timidin-5′-fosfat)
    - *Acid dezoxi-citidilic* dezoxi-citidin-mono-fosfat (dCMP) = (dezoxi-citidin-5′-fosfat)
  - purinici
    - *Acid dezoxiadenilic* dezoxi-adenozin-mono-fosfat (dAMP) = (dezoxi-adenozin-5′-fosfat)
    - *Acid dezoxi-guanilic* dezoxi-guanozin-mono-fosfat (dGMP) = (dezoxi-guanozin-5′-fosfat)
- B. *Ribonucleotizi*
  - pirimidinici
    - *acid uridilic* sau uridin-mono-fosfat (UMP) = (uridin-5′-fosfat) = (uridil-5′-fosfat) = (acid uridil-5′-fosforic)
    - *acid citidilic* sau citidin-mono-fosfat (CMP) = (citidin-5′-fosfat) = (citidil-5′-fosfat) = (ac. citidil-5′-fosforic)
  - purinici
    - *acid adenilic* sau adenozin-mono-fosfat (AMP) = (adenozin-5′-fosfat) = (adenil-5′-fosfat) = (ac. adenozin-5′-fosforic)
    - *Acid guanilic* sau guanozin-mono-fosfat (GMP) = (guanozin-5′-fosfat) = (guanil-5-fosfat) = (ac. guanozin-5-fosforic).

Scanned with OKEN Scanner

Copolimerii alcătuiți din dezoxiribonucleotide se numesc acizi dezoxiribonucleici, în timp ce copolimerii alcătuiți din ribonucleotide se numesc acizi ribonucleici.

Acidul dezoxiribonucleic (ADN) este alcătuit din patru feluri de monomeri (dezoxiribonucleotide): dTMP, dCMP, dAMP și dGMP, dispuși în două lanțuri complementare paralele între ele și răsucite într-o dublă spirală (fig. 22).

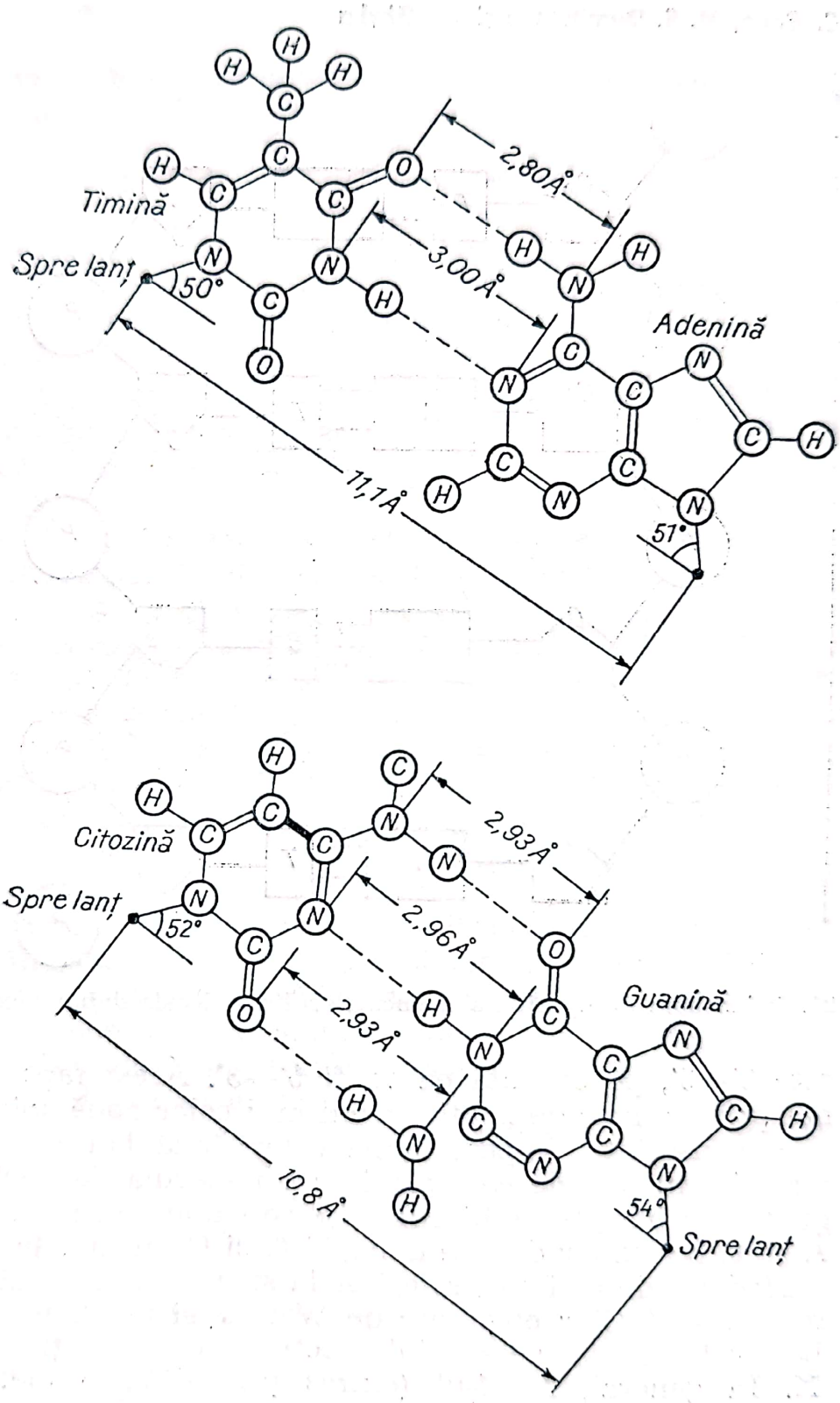
Dezoxiribonucleotidele de pe un același lanț sînt legate una de alta prin legături fosfodiesterice, în sensul că fiecare monomer oferă pentru stabilirea de legături internucleotidice următoarele două puncte: carbonul din poziția *3′* a dezoxiribozei sale, prin care se va lega de radicalul fosforic al nucleotidului supraiacent; radicalul său fosforic, legat de carbonul din poziția 5', prin care se va lega de carbonul din poziția 3' a dezoxiribozei nucleotidului subiacent.

Astfel, toate nucleotidele de pe o spiră vor fi polarizate în același sens și vom putea distinge două capete ale fiecărei spire: un capăt 3′ și un capăt 5′, unde se află radicalul fosforic. De aceea, se spune că legăturile internucleotidice de pe fiecare lanț sînt de tipul 3'-5' fosfodiesterice.

Complementaritatea celor două lanțuri se referă la bazele azotate *eponime* ale nucleotidelor așezate față în față. Fiecare „pereche“ de nucleotide este alcătuită dintr-un nucleotid a cărui bază azotată este o purină și altul a cărui bază azotată este o pirimidină, capabile să stabilească între ele un număr de două sau trei punți de hidrogen. Astfel, adenina, cu molecula mare, capabilă să stabilească două punți de hidrogen, se va împerechea totdeauna cu timina, care are molecula mică și este capabilă să stabilească tot două punți de hidrogen, iar guanina, cu molecula mare, capabilă să stabilească trei punți de hidrogen, se va împerechea totdeauna cu citozina, care are moleculă mică și poate stabili tot trei punți de hidrogen.

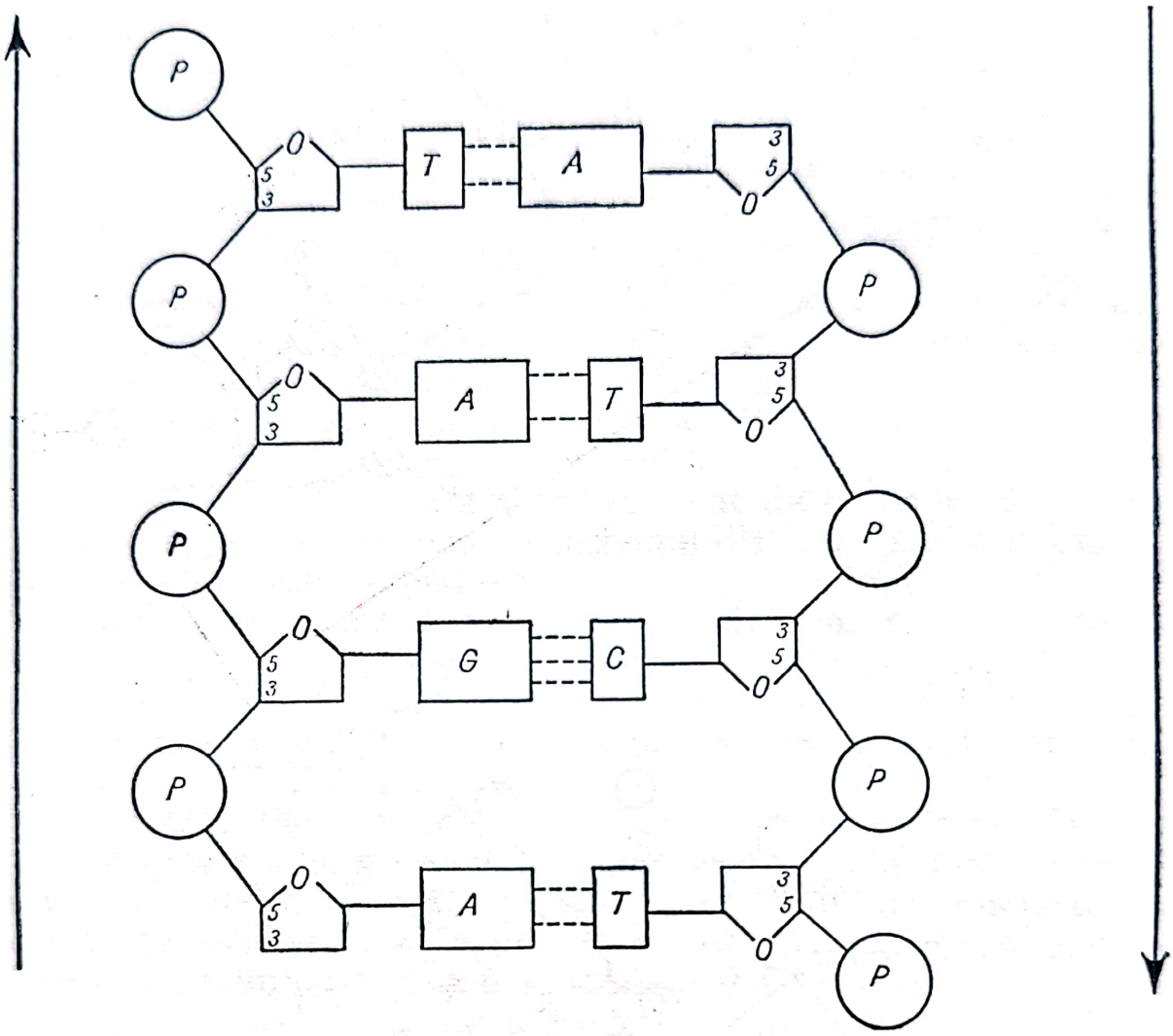
Așadar, în mod normal nu se poate produce o împerechere între două pirimidine sau între două purine. De asemenea, purina și pirimidina dintr-o aceeași pereche trebuie să aibă capacitatea de a forma *același* număr de punți de hidrogen (fig. 20).

Polaritatea celor două lanțuri polinucleotidice este inversă, adică dacă pe un lanț orientarea legăturilor internucleotidice



20. Împerecherea bazelor azotate din structura acizilor nucleici

Scanned with OKEN Scanner



21. Polaritatea de opoziție a filamentelor din molecula dublu elicoidală de ADN

este 3'→5', pe cealaltă ea va fi 5'→3'. Acest fapt este desemnat prin numele de „antiparalelismul celor două spire" (fig. 21).

În consecință, împerecherea celor două lanțuri complementare și antiparalele ce alcătuiesc o moleculă de ADN este asigurată de punțile de hidrogen ce se stabilesc întotdeauna între: A și T, în număr de cîte două, și G și C, în număr de cîte trei.

Modelul de mai sus, referitor la structura ADN-ului, se datorește cercetărilor efectuate de Watson și Crick în 1953—1954, bazate în special pe studiul spectrelor de difracție a radiațiilor X. În general, ADN-ul (extras prin diferite metode) are o greutate moleculară cuprinsă între 6 și $14 \cdot 10^6$.

În ce privește macromolecula de ADN, analiza preparatelor microelectronice obținute din fagii T_3 și λ arată că ADN-ul ar avea diametrul de 20 Å și lungimea de 14 μ în cazul fagului T_3 și de 23 μ în cazul fagului λ. Genele par a fi dispuse în lungul moleculei de ADN (Cavius, 1962).

Cavius consideră că cele două fire de ADN din cromozomul de *E. coli* au o lungime de 400 μ. În sfîrșit, în cazul cromozomilor giganți lungimea dublului helix, calculată în funcție de greutatea moleculară, este de ordinul centimetrilor.

Aceste date sugerează că, în afară de configurația sa moleculară, dublu helicoidală, ADN posedă încă o structuralizare suplimentară care îi dă posibilitatea să fie conținut în cromozomi.

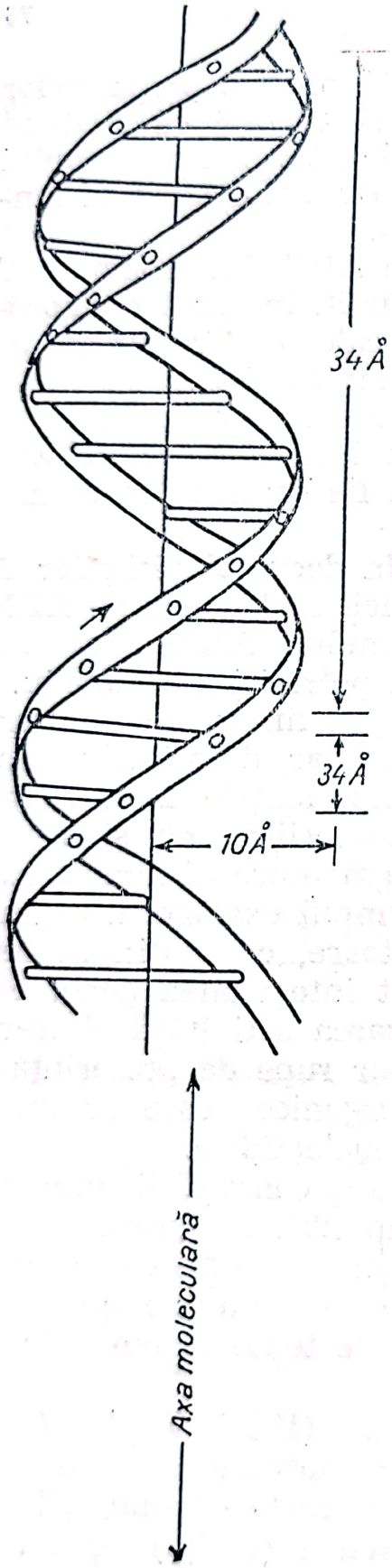
Dispoziția ADN-ului în cromozomi. În decursul ultimilor 60 de ani s-a considerat că genele, și implicit moleculele de ADN, sînt dispuse liniar în lungul cromozomului. Astfel conceput, acest model prezenta totuși unele nepotriviri de detaliu.

În primul rînd dacă ADN-ul ar fi dispus liniar în cromozom, el nu ar putea fi conținut în nucleul celular, datorită lungimii sale foarte mari. În al doilea rînd, experiențele de transformare genetică efectuate atît asupra bacteriilor, cît și asupra unor celule animale au arătat că fragmentarea întîmplătoare a moleculei de ADN, care are loc în timpul extragerii, îi „menajează" totuși activitatea transformatoare, cel puțin în ceea ce privește unele dintre gene. Întrucît integritatea genei este o condiție indispensabilă pentru realizarea activității ei transformatoare, s-a postulat că ADN-ul s-ar rupe de preferință la nivelul unor ipotetice „articulații intergenice" care ar trebui să fie mai labile decît legăturile internucleotidice.

Toate aceste fapte au arătat necesitatea construirii unui model cromozomic care, pentru a fi compatibil cu datele experimentale, trebuia să explice și modul în care cîțiva centimetri de ADN se pot împături sau plicatura în limitele dimensiunilor unei celule, așa încît să fie posibile toate fenomenele genetice și nucleare cunoscute.

Pornind de la o sugestie a lui Freese (1958), Taylor (1963) a construit un model în care ADN cromozomic ar fi alcătuit dintr-un număr de segmente dublu elicoidale obișnuite, legate cap la cap prin intermediul unor linkeri (verigi) de un tip

Scanned with OKEN Scanner



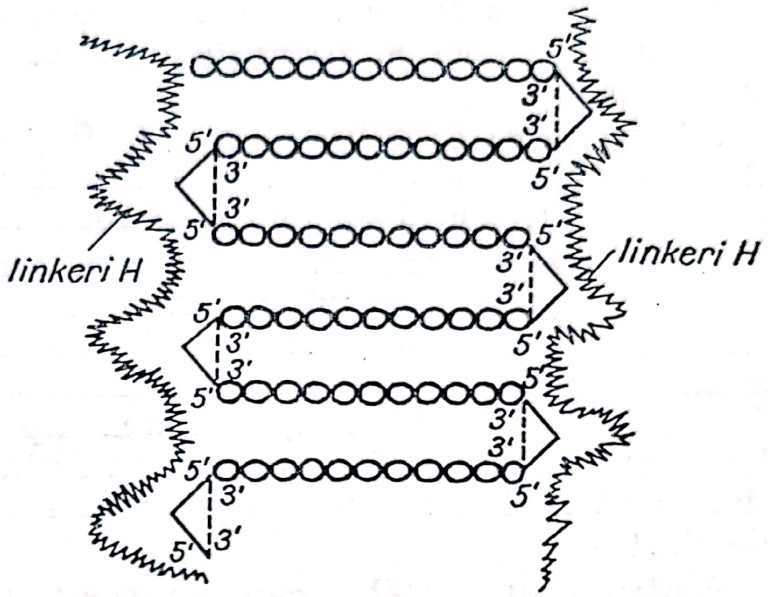
22. Modelul structural al moleculei de ADN

special, care, fiind localizați față în față, la anumite intervale pe lanțurile complementare, permit „plicaturarea" segmentelor adiacente după unghiuri foarte ascuțite, astfel încît să rezulte o suprastructură în zigzag. Linkerii dintre segmentele de mai sus postulați în acest model sînt de două tipuri: linkeri 5′—5′, care stabilesc legătura înte grupările terminale 5′ fosfat aparținînd la două lanțuri polinucleotidice așezate succesiv (și care au polarități 3′—5′ inverse), și linkeri 3′—3′, care unesc într-un mod similar capetele 3′ OH ale lanțurilor complementare.

Cromatida apare astfel alcătuită dintr-o serie de segmente (duble helixuri) de ADN legate în tandem în modul următor: grupările terminale 3′ OH și 5′ fosfat ale fiecărui lanț de pe un segment sînt legate direct prin linkeri 3′—3′ și respectiv 5′—5′, așezați față în față, de grupările omonime ale lanțurilor ce alcătuiesc cele două segmente imediat învecinate și față de care au polaritatea inversă.

Este binecunoscut faptul că la animale, moleculele de ADN din cromozomi sînt solidarizate prin proteine bazice, care în cazul celulelor somatice sînt de obicei histone, iar în cazul celulelor spermatice — protamine.

Proteinele bazice formează linkerii H care solidarizează segmentele



23. Modelul Taylor

ADN din cromatidă, menținîndu-le plicaturate în zigzag. Aceste legături „dublează" linkerii 5′—5′, pe care îi îmbracă pe dinafară (fig. 23).

Datele faptice care vin în sprijinul modelului propus sînt, pe de o parte, prezența învelișului de proteine bazice din jurul dublului helix al ADN-ului, care se constată la toți cromozomii organismelor uni- și pluricelulare, iar, pe de altă parte, natura neproteică a linkerilor 3′ și 5′, dovedită de faptul că proteazele (și nici ribonucleazele) nu pot scinda helixul de ADN.

Biosinteza macromoleculei de ADN

Elucidarea mecanismului prin care se realizează biosinteza ADN reprezintă una dintre cele mai importante probleme ale biologiei actuale, întrucît aceasta constituie însăși esența procesului de reproducere a ființelor vii.

Posibilitățile formale de realizare a acestui proces au fost sistematizate de către Delbrück, care a arătat că se pot imagina numai trei modele de „replicare" pentru ADN:

Scanned with OKEN Scanner

1. Replicarea conservativă, în care dublul helix ADN original rămîne intact și folosește doar ca model pentru sinteza unuia nou.

2. Replicarea dispersivă, în care firele înalt polimerizate de ADN se rup în segmente mai scurte ce vor fi apoi încorporate alternativ în cele două molecule fiice de ADN.

3. Replicarea semiconservativă, în care cele două fire de ADN se separă longitudinal unul de altul (păstrîndu-și însă, fiecare, integritatea) și vor folosi, ambele, ca inițiatori pentru asamblarea de nucleotide complementare, astfel încît fiecare fir să-și reconstruiască „jumătatea lipsă" (identică, datorită legii complementarității bazelor, cu fosta pereche). Astfel, cantitatea de ADN se dublează păstrînd însă neschimbată schema de alcătuire.

Pentru a putea stabili care din aceste trei modele corespunde de fapt realității s-au încercat, în cursul deceniului trecut, o mulțime de verificări experimentale.

Dintre acestea, cea mai concludentă și mai strălucitoare a fost efectuată de Meselson și Stahl, care au demonstrat astfel că *modul real de replicare al ADN-ului este cel semiconservativ*. Meselson și Stahl (1958) au cultivat bacterii (*E. coli*) pe un mediu minimal cu clorură de amoniu, ce conținea azot marcat. La început, bacteriile au fost cultivate pe un mediu în care unica sursă de azot era clorura de amoniu cu N^{15}. (Astfel încît tot ADN-ul lor să conțină numai N^{15}). Cînd cultura bacteriană se afla în stadiul de dezvoltare maximă (faza logaritmică), germenii au fost prelevați și însămînțați în alt mediu, ce conținea clorură de amoniu cu N^{14}. După ce s-a oprit creșterea, s-a extras ADN-ul, care a fost analizat prin metoda ultracentrifugării în gradient de densitate de clorură de cesiu.

Rezultatele au arătat că ADN-ul tuturor bacteriilor din prima generație filială conținea un amestec, în cantități egale, de N^{15} și de N^{14}, iar în generația a doua, jumătate din molecule conținea atît N^{15} cît și N^{14}, pe cînd cealaltă jumătate conținea numai N^{14}.

Atunci cînd cultura era lăsată mai multe generații, analiza ADN arăta o scădere treptată (cu rația = 1/2) a raportului N^{15}/N^{14}.

De aci s-a tras concluzia că în prima generație filială, fiecare moleculă de ADN conținea un filament marcat cu N^{15} (de proveniență parentală) și altul cu N^{14} (nou sintetizat). În replicările ulterioare, o parte din moleculele-fiice (în număr constant) aveau unul din filamente marcat cu N^{15} (marcajul inițial) care se conserva și unul cu N^{14}, iar celelalte molecule-fiice, al căror număr absolut și frecvență relativă se dubla la fiecare generație, conțineau în ambele filamente ale ADN numai N^{14}.

Spre deosebire de toate celelalte componente ale celulelor care au un turnover mai mult sau mai puțin rapid, ADN nu se reînnoiește în celulele în stare de repaus, ci doar se duplică în cursul fazei de sinteză a ciclului celular.

Acest proces de sinteză a putut fi reprodus in vitro, în sisteme acelulare, care conțineau: ADN-inițiator (primer), ce îndeplinea rolul de matrice, dezoxiribonucleotizi trifosfatați, o enzimă (ADN-polimeraza) și ioni Mg^{++}, ca activatori.

ADN-inițiator trebuie introdus neapărat în reacție, el constituind matricea pe care se realizează sinteza de noi molecule. ADN-polimeraza catalizează formarea legăturilor fosfodiesterice, care sînt caracteristice polimerilor dezoxiribonucleotidici.

Studiile efectuate în ultimul an au adus noi date asupra mecanismului de acțiune a ADN-polimerazei. ADN-polimeraza pare a fi constituită dintr-un complex de enzime: o nucleotid transferază terminală, capabilă să fixeze nucleotidul la capătul unui lanț de ADN-inițiator și o ADN-fosfatază exonucleară ce catalizează hidroliza terminală a unui lanț de ADN, plecînd de la fosforilul 3′ terminal, eliberînd 5′ mononucleotide și lăsînd la capătul lanțului un hidroxil 3′ terminal, necesar nesintezei de ADN (Bollum și colab., 1964; Recondo, 1964). Mai mult, Lee-Huang și colab. (1964) au arătat că enzima pare a fi de o mai mare complexitate. Acești autori au izolat o ADN-ARN-hibrid-polimerază care poate sintetiza un hibrid ADN-ARN în raport cu un inițiator. Deci polimeraza acizilor nucleici poate fi o enzimă formată din subunități, care apare bifuncțională.

Din experiențele de biosinteză ADN in vitro au reieșit cîteva fapte esențiale și anume:

Scanned with OKEN Scanner

1. Sinteza noilor molecule de ADN se efectuează sub acțiunea ADN-polimerazei ce catalizează formarea legăturilor fosfodiesterice dintre nucleotidele polimerului;
2. Polimerul nou sintetizat are o structură complementară față de aceea a ADN-ului inițiator care a servit ca matrice;
3. Există o concordanță deplină între datele furnizate de modelul dublu elicoidal și procesul de replicare.

Totuși experiențele realizate in vitro sînt departe de a putea fi identificate cu procesele replicării și ale biosintezei ADN-ului in vivo. Aceste experiențe au necesitat fundamentarea unui model de replicare in vivo, care, bazîndu-se pe datele furnizate de reacțiile biochimice, să explice particularitățile ADN-ului dispus în cromozom.

S-a încercat să se explice replicarea ADN în interiorul cromozomului în lumina modelului Taylor, în conformitate cu datele obținute asupra replicării in vitro, care presupun: o denaturare a moleculei dublu helicoidale, urmată de desfășurarea helixului și de ruperea legăturilor de hidrogen care unesc bazele azotate între ele și sintetizarea a două noi filamente prin asamblarea de nucleotizi-complementari-filamentelor-mamă, concomitent cu formarea de legături fosfodiesterice între ele (ultima reacție este catalizată de ADN-polimerază).

Datele experimentale arată că replicarea ADN nu este sincronă pe întreaga lungime a filamentului, ea începînd la nivelul unui linker 3′ care se rupe, permițînd desfășurarea dublului helix.

După desfășurarea celor două filamente ale dublului helix se realizează, la acest nivel, biosinteza duplicativă: la capătul desfăcut se inserează un nou linker 5′, iar pînă în momentul cînd replicarea se va fi efectuat de-a lungul întregului filament, capetele 3′ vor fi blocate prin linkeri 3′ R, adică prin „linkeri de replicare". Acești linkeri 3′ R, care apar la capetele firelor, sînt rezistenți la nucleaze, astfel încît, o dată formați, ei nu mai permit (la nivelul respectiv) desfășurarea dublului helix, pentru o nouă sinteză.

Ulterior, cele două molecule de ADN se desprind și atunci linkerii 3′ R redevin linkeri 3′—3′, moleculele nou formate fiind solidarizate de linkeri H, de natură proteică.

Scanned with OKEN Scanner

Biosinteza ADN-ului din cromozomi se face pornind întotdeauna de la un punct fix și progresînd pînă la dublarea întregului cromozom.

Autoreplicarea propriu-zisă nu se realizează decît la nivelul unui punct de creștere *(growing point)*, care înaintează cu viteză uniformă, parcurgînd toată lungimea cromozomului. În fața acestui punct de creștere se produce desrăsucirea celor două filamente ale moleculei de ADN, paralel cu ruperea punților de hidrogen dintre bazele azotate.

În urma punctului de creștere se lungesc treptat cele două molecule dublu helicoidale de ADN nou sintetizat. Deci, autoreplicarea nu se face simultan pe toată întinderea cromozomului, ci reprezintă un proces progresiv care străbate, din nucleotid în nucleotid, întreaga lungime a moleculei de ADN.

Un argument deosebit de interesant în favoarea acestui model de replicare a fost adus de lucrările lui Presky (1964), care a studiat sinteza proteinelor cromatiniene cu ajutorul argininei marcate cu H^3. Din datele autoradiografice obținute de acești autori se poate trage concluzia că sinteza histonelor are loc numai în perioada de sinteză a ADN-ului celular (perioada S). De aci rezultă că la sfîrșitul duplicării moleculelor de ADN, componenta proteică (histonele) este sintetizată și ea, astfel încît toți constituenții cromatidei apar duplicați.

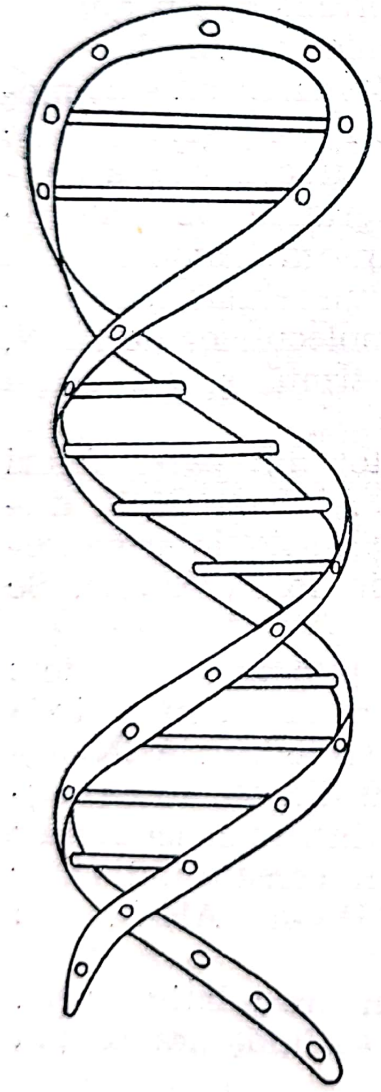
Acidul ribonucleic (ARN) este alcătuit tot din patru feluri de monomeri (ribonucleotide): UMP, CMP, AMP și GMP, dispuși însă pe un singur lanț elicoidal. Legăturile internucleotidice se fac ca și în ADN, fiind tot de tip fosfodiesteric. Se cunosc trei tipuri de ARN.

ARN-mesager (ARN-m) reprezintă, din punctul de vedere al structurii și compoziției în nucleotide, imaginea în oglindă a firului de ADN după tiparul căruia a fost sintetizat. ARN sintetizat în lungul unui cromozom este alcătuit din tot atîtea segmente cîte segmente de ADN sînt cuprinse între „articulațiile" 5′—5′ și 3′—3′ existente, aceste articulații constituind chiar „punctele de întrerupere" a sintezei de ARN-m. ARN-m *nu* are structură secundară.

ARN de transfer (ARN-t) este alcătuit din fire relativ scurte, cu lungimea medie de 70 nucleotide, care se înfășoară parțial unul în jurul celuilalt.

Scanned with OKEN Scanner

Diferite date experimentale sugerează că ARN-t are o structură secundară, care ar fi reprezentată de către o regiune terminală acceptoare, de care se leagă aminoacidul activat, și de către acidul guanilic la capătul celălalt. Între pG și pC al pCpCpA se formează prima punte de hidrogen. Urmează apoi o regiune intermediară, dublu-helicoidală, formată din 30 de nucleotide pentru fiecare filament. Pasul elicoidului este de 34 Å și cuprinde zece perechi de nucleotide, de unde se poate deduce că întreaga lungime a moleculei măsoară 110 Å. Locul de unire al celor două filamente este reprezentat de o buclă formată din trei nucleotizi, care nu sînt uniți între ei prin punți de hidrogen, probabil din cauza distanței mai mari de 3 Å față de celelalte nucleotide (fig. 24).



24. Modelul structural al moleculei de ARN-t

Planul general de organizare al ARN-t este același, indiferent de aminoacidul de care se fixează și de specia în care se găsește. Dar compoziția particulară în ribonucleotide variază cu aminoacidul de care se leagă, existînd cel puțin atîtea feluri de ARN-t cîți aminoacizi participă la procesul de sinteză a proteinelor. Mai mult decît atît, moleculele de ARN-t specifice pentru același aminoacid sînt strict identice între ele la toate speciile. În funcția pe care ARN-t o îndeplinește în procesul de sinteză a proteinelor rolul principal îl joacă tripletul nucleotidic situat la nivelul buclei, care reprezintă secvența de baze caracteristică (complementară codonului) unui anumit tip de aminoacid, cît și secvența terminală pCpCpA de care se atașează aminoacidul activat. Daniel și colab. (1965) au demonstrat că din

Scanned with OKEN Scanner

tripletul terminal doar pCpA sînt strict necesari pentru atașarea aminoacidului de molecula de ARN-t.

ARN-ribozomic (ARN-r) este localizat în ribozomii citoplasmatici, nucleari și în nucleol.

Nucleolul reprezintă o formațiune cu rol în sinteza proteinelor și o stație de tranzit pentru ARN sintetizat în nucleu spre citoplasmă.

Investigațiile biochimice au arătat că ARN din nucleol are o compoziție în baze similară cu ARN-r citoplasmatic și o greutate moleculară identică (Rho și Bonner, 1962; Bush și colab., 1963).

ARN-r prezintă cîteva caracteristici, dintre care poate fi menționată aceea că în celule el se găsește întotdeauna legat de proteine, fiecare tip de particulă ribozomică conținînd 63% ARN și 37% proteine. Studiile la microscopul electronic par să indice că există un „sîmbure" de ARN învelit în proteină.

De asemenea, compoziția în nucleotide a ARN preparat din diferite surse este asemănătoare, iar raportul dintre bazele azotate purinice și pirimidinice este de 1,3.

Datele referitoare la o presupusă structură secundară de tipul unui dublu elicoid sînt incerte.

Studiile de difracție, ca și analiza hipocromicității au sugerat ipoteza că ARN-r ar putea prezenta atît porțiuni din moleculă dublu elicoidale, legate prin punți de hidrogen, cît și regiuni cu bucle în afara dublului helix, în care bazele nu sînt unite prin punți caracteristice.

Biosinteza macromoleculei de ARN

ARN-ul se sintetizează în nucleu conform tiparului ADN existent și migrează apoi în citoplasmă împreună cu unele proteine de care se leagă ulterior.

Spre deosebire de sinteza ADN-ului care in vitro nu a putut fi realizată decît într-un singur sistem ce necesită dezoxiribonucleotizi trifosfatați, ADN-polimeraza și Mg^{++}, în cazul ARN se cunosc mai multe căi de biosinteză.

Scanned with OKEN Scanner

Caracteristic pentru toate căile de biosinteză ale ARN este necesitatea unui acid nucleic inițiator, care dirijează reacția, constituind uneori și matricea.

Biosinteza catalizată de polinucleotid-fosforilază

Polinucleotid fosforilaza catalizează sinteza poliribonucleotidelor, plecînd de la ribonucleozid 5′ fosfați, după reacția

$$n \times \mathrm{Rpp} \rightleftharpoons (\mathrm{Rp})_n + n\mathrm{p}_1$$

Enzima intervine în reacția de esterificare a ribonucleotidului difosfat la capătul terminal al unui polinucleotid preformat, care are o grupare OH liberă în poziția 3′ și catalizează formarea unei legături fosfodiesterice 3′— 5′.

Această enzimă intervine însă nu numai în acest proces, ci participă și la o serie de alte reacții chimice, cum ar fi reacția de fosforoliză, reacțiile de schimbare a fosfatului terminal cu fosfat anorganic și reacția de transfer a unui ribonucleotid monofosfat de pe un polimer donator pe altul acceptor.

Tocmai aceste fapte au făcut pe o serie de autori să pună la îndoială rolul enzimei în procesul de replicare al ARN-ului in vivo.

În mecanismul reacției un rol important îl are ARN inițiator, care nu reprezintă însă o matrice propriu-zisă pentru lanțul polinucleotidic nou format, întrucît enzima catalizează adăugarea de nucleotide la capătul terminal al unui polinucleotid preformat, participînd astfel numai la alungirea lui.

În cazul sintezei de homopolimeri de tipul poliadenilic și poliuridilic, reacția poate fi catalizată de către enzimă și în absența primerului, însă adăugarea la aceste reacții care au o perioadă lungă de lag a unui ARN inițiator grăbește în mod semnificativ desfășurarea reacției. Inițiatorul nu inițiază o reacție specifică.

Singur poli-C poate iniția, pe lîngă sinteza propriului său polimer poli-C și sinteza tetra-polimerilor, de exemplu a poli-

Scanned with OKEN Scanner

AGUC și a poli-G. În acest sens, poli-C reprezintă o excepție pentru aceste reacții de inițiere.

Polinucleotid-fosforilaza prezintă o specificitate de substrat relativă, în sensul că deși acționează numai asupra nucleotid-difosfaților ea nu se limitează strict la un singur tip de ribonucleotid, ci poate acționa asupra tuturor nucleotidelor din structura ARN, cît și asupra inozin-difosfatului, a N-metil-amido-5-pirofosfatului, a 2-timidin-5-pirofosfatului și a 5-fluorouridin-5′-difosfatului.

Specificitatea de substrat se referă atît la numărul de fosfați terminali atașați la nucleotid, cît și la zaharul din structura lor, în sensul că nu acționează asupra nucleotidelor ce conțin dezoxiriboză și nici asupra acelora la care gruparea pirofosfat este substituită cu una sulfat.

După cum s-a arătat mai sus, enzima intervine atît în procesele de fosforilare a nucleotidelor difosfatate, cît și în transferul unor nucleotide monofosfatate. Acțiunea acestei enzime prezintă o importanță mai redusă pentru problema de care ne ocupăm, de aceea nu vom aminti decît funcțiile polinucleotid-fosforilazei în organism.

După Abraham (1961) două fapte importante pledează împotriva unui rol al ei în replicarea ARN-ului in vivo, și anume ușurința fosforolizei și distribuția ei limitată la bacterii și mai ales la organismele superioare. S-ar mai putea adăuga lipsa de specificitate de specie și de inițiator, care rezultă din faptul că formarea unui poli-AGUC sintetic, de exemplu, reflectă, prin compoziția sa, mai degrabă concentrația nucleotidelor din substratul adăugat, decît compoziția inițiatorului.

De aceea, s-a sugerat ideea că enzima ar avea importanță în organism mai ales pentru procesele de degradare a ARN, care nu prezintă structuri secundare (ARN-t este degradat doar în proporție de 20—40%) și în formarea dezoxiribonucleotidelor, deoarece ribonucleotid-difosfații sînt precursorii acestora.

În orice caz, astăzi nu se poate considera cu certitudine că polinucleotid-fosforilaza intervine în vreun sistem de biosinteză a ARN-ului în organismele animalelor superioare.

Scanned with OKEN Scanner

Biosinteza catalizată de ARN-polimerază

Mecanismul sintezei ARN în reacțiile catalizate de ARN-polimerază prezintă un interes deosebit, întrucît dă indicațiile cele mai fidele asupra proceselor care au loc in vivo.

ARN-polimeraza izolată dintr-o serie de specii bacteriene și din celulele animale și vegetale catalizează sinteza de ARN, pornind de la un inițiator ADN, și folosind cele patru tipuri de ribonucleotide trifosfatate și Mg^{++} sau Mn^{++}, după reacție.

Enzima pură are o activitate specifică de 6 100 unități/mg și o greutate moleculară de 6×10^5 (Brenner, 1957).

$$\text{ADN primer} + n\,(\text{UTP, ATP, CTP, GTP}) \xrightarrow[Mg^{++}\text{ sau }Mn^{++}]{\text{ARN-polimeraza}} \rightarrow \text{ARN} + n\,\text{PP} + \text{ADN primer}$$

Pentru ca această reacție să poată avea loc, este necesar ca atît ADN cît și enzima purificată să provină de la aceeași sursă. Este, de asemenea, indispensabilă prezența ionilor de Mg^{++}, Mn^{++} și a compușilor SH cu un pH=7,5—8, cît și prezența celor patru ribonucleotide trifosfatate.

Ca primer poate funcționa ADN izolat din sursele cele mai diferite. El intervine direct în reacție, fapt demonstrat atît prin identitatea în compoziție și secvența complementară în baze a produsului nou format, cît și prin faptul că DN-aza inhibă reacția. Pot funcționa ca primeri atît ADN nativ, cît și cel monofir din fagul φx 174.

Studii deosebit de detaliate au fost efectuate în ceea ce privește structura compusului nou format.

Analiza acestui compus a scos în evidență cîteva fapte deosebit de importante. Astfel, ARN-ul sintetizat constă din lanțuri cu secvența nucleotidică complementară a ADN-ului primer. În cazul utilizării unui ADN dublu elicoidal ca primer, acesta își păstrează proprietățile sale biofizice după ce a fost utilizat în reacție. Ambele fire ale ADN folosesc ca inițiator în reacție, fapt demonstrat prin posibilitatea hibridării unora dintre firele de ARN nou formate cu unul din firele primerului.

Scanned with OKEN Scanner

Biosinteza in vivo a diferitelor tipuri de ARN-celular

Așa cum s-a arătat la începutul capitolului, ARN din celulă nu este o entitate chimică, topografică și funcțională omogenă, cu excepția formulei sale brute. Studiile efectuate pînă în prezent au fost îndreptate în cea mai mare măsură spre analiza modalității de biosinteză a celor trei tipuri de ARN funcționale.

Sinteza ARN-r. În general este admisă originea nucleară a ARN-r din constituția ribozomilor nucleari și citoplasmatici. Mult timp această concluzie a fost mai mult deductivă. Dovezile asupra biosintezei nucleare a ARN-r au provenit din experiențe efectuate la bacterii și la mazăre.

Yanofsky și Spiegelman (1964) au demonstrat că ARN-r 23S din ribozomii de *E. coli* pot forma hibrizi cu ADN de *E. coli* și că corespondența în baze a complexului format se apropie de valoarea maximă cu o aproximație de 0,0015. Acești hibrizi au fost recent fotografiați cu ajutorul microscopului electronic de către Bladen și colab. (1965).

În experiențele efectuate pe mazăre s-a arătat că ARN-r nu poate forma hibrizi decît cu ADN specific.

Toate aceste date converg spre originea nucleară a ARN-r, arătînd totodată că în procesul de biosinteză *in vivo* acesta folosește ca primer ADN-ul din genomul celular. Atenția cercetătorilor a fost îndreptată spre analiza porțiunii ADN din genom, la nivelul căreia se realizează acest proces, deoarece este un fapt bine stabilit că biosinteza ARN-r nu poate avea loc de-a lungul întregului fir de ADN, ci probabil numai pe o porțiune scurtă a acestuia.

O serie de cercetări autoradiografice au arătat rolul deosebit de important pe care îl joacă nucleolul în economia ARN-r (Sirlin, 1962; Rho, Bonner, 1961; Bush, Byvelt, 1963).

Prin cercetările biochimice s-a demonstrat că ARN-ul din nucleol are o compoziție în baze și o greutate moleculară apropiată (28S sau 18S) cu aceea a ARN-ului ribozomial. ARN nucleolar și cel ribozomic iau parte la formarea de hibrizi cu ADN din nucleu, fapt ce indică o origine comună, dar ARN-ul

Scanned with OKEN Scanner

nucleolar este sintetizat nu de către întregul genom, ci doar de anumite porțiuni — numite „organizatorul nucleolar" (Sirlin și colab., 1963), și de ADN localizat la nivelul nucleolului (Chipchase, 1963).

Sinteza ARN-t. Nu există dovezi clare asupra sediului și a mecanismului de sinteză a ARN-t. Sinteza sa nucleară ar implica existența în ADN a unor segmente scurte, de 70—90 nucleotide, care să participe la sinteza a cel puțin 20 de tipuri de ARN-t, fiecare aminoacid avînd un ARN-t caracteristic pentru fiecare codon.

Benzer (1961), Champe și Yanofsky (1962) au sugerat că unele mutații supresoare pot fi explicate numai prin apariția unor noi tipuri de ARN-t sintetizate la nivelul genomului, care să-și fi modificat specifitatea de codificare.

Toate aceste fapte reprezintă argumente indirecte pentru o sinteză de ARN-t în care matricea să fie constituită din porțiuni de ADN din genom.

Sinteza ARN-m. ARN-m reprezintă fracțiunea din ARN-ul celular care este sintetizată în nucleu, în mod complementar pe ADN care constituie matricea.

Experiența crucială care a dus la concluzia existenței ARN-m a fost întreprinsă de Hershey și colab. (1953), care au constatat apariția unui ARN nou în celulele de *E. coli* infectate cu fagul T_2. Este meritul cercetărilor lui Jacob și Monod (1961) de a fi denumit acest ARN, ARN-m, întrucît reprezintă fracțiunea ce transmite mesajul genetic copiat de pe ADN, la nivelul locului de sinteză a proteinelor.

Cercetările ulterioare au dovedit existența ARN-m la un număr variat de celule bacteriene, vegetale și animale, cît și instabilitatea și viața sa scurtă, la bacterii, în contrast cu un grad mare de stabilitate metabolică la plante și animale.

Ele au confirmat existența unei secvențe de baze complementară cu cea a filamentului unic de ADN, cînd s-a utilizat ADN *monofir* (ca acela din fagul φ *x* E 174), sau cu a ambelor filamente în cazul celulelor bacteriene și animale care au ADN dublu elicoidal.

De asemenea, cercetările au arătat că este posibilă utilizarea de poliribonucleotizi sintetici în sistemul acelular de sinteză a proteinelor, ceea ce a permis descifrarea codului genetic pentru

Scanned with OKEN Scanner

aminoacizi. (Acesta constituie unul din cele mai puternice argumente în favoarea existenței și funcției ARN-m).

În ceea ce privește mecanismul biosintezei ARN-m se admite că in vivo acest proces are loc după un mecanism identic cu cel reprodus in vitro, fiind catalizat de ARN-polimerază: ADN cromozomial constituie primerul, ribonucleotizii trifosfatați materialul de construcție, ionii de Mg^{++} activatorii, iar ARN-polimeraza, enzima care realizează acest proces.

Dacă majoritatea autorilor admit că singura cale de biosinteză a ARN-m este reacția catalizată de ARN-polimeraza, realizarea acestui proces in vivo ridică următoarele probleme: un singur fir sau ambele fire ale moleculei de ADN sînt active ca matrice pentru sinteza de ARN-m? Dacă ambele fire sînt interesate ca matrice, ARN-m este complementarul unui singur fir sau al ambelor fire ale unui segment particular genetic?

În cazul cînd ambele fire ar fi interesate, atunci pentru un singur segment din ADN s-ar sintetiza două lanțuri ARN-m, cîte unul pentru fiecare fir al dublului helix primer.

Spre deosebire de experiențele in vitro, unde s-a dovedit că ambele fire de ADN pot constitui matrice pentru sinteza de ARN-m, fapt ce reiese din capacitatea productului ARN-polimerazei de a forma hibrizi cu ambele fire ale ADN, in vivo se pare că numai segmente reduse din cele două filamente constituie o matrice pentru ARN-m.

Astfel, Bautz (1958) a găsit că ARN-m specific fagului T_4 izolat pe coloană are o compoziție în baze (citozină 16%, adenină 30%, uracil 33%, guanină 25%) care nu este complementară ambelor fire de ADN.

Aceste date încearcă să dea un răspuns neechivoc în sensul că in vivo ARN-m este sintetizat pe anumite segmente ale firului de ADN, fapt ce a incitat pe Jones și Truman (1964) să elaboreze o ipoteză destul de bine fundamentată asupra mecanismului intim al acestui proces.

Acești autori consideră că procesul de sinteză a ARN-m începe cu ruperea unui fir din ADN și separarea fragmentului rupt în timpul sintezei moleculei de ARN-m. Fragmentul rupt constituie matricea pentru sinteza ARN-m, iar ribonucleotidele se împerechează liniar începînd de la segmentul rupt în prezența ARN-polimerazei. Firul care servește ca matrice se nu-

Scanned with OKEN Scanner

meşte fir de transcripţie. Între timp, firul care nu este rupt asamblează dezoxiribonucleotizii trifosfataţi într-o secvenţă complementară corectă, sintetizînd un fragment identic cu cel de transcripţie, în prezenţa ADN-polimerazei.

După încetarea sintezei de ARN-m firul de transcripţie este distrus, iar cel nou sintetizat se uneşte cu firul existent la nivelul unde transcripţia încetează.

Modelul propus este în concordanţă cu unele fapte. Astfel, experienţele genetice confirmă existenţa unui punct particular de transcripţie a ADN-ului care înaintează într-o direcţie fixă.

Codificarea informaţiei genetice

Informaţia genetică şi mesajul genetic. Stabilirea faptului că moleculele ambilor acizi nucleici sînt copolimeri alcătuiţi, aşa cum am văzut, din patru feluri de monomeri şi că moleculele diverselor proteine sînt, de asemenea, copolimeri alcătuiţi din 20 de tipuri de monomeri (aminoacizi), a permis ca imediat după 1953, problema specificării individualităţii unei structurii vii să poată fi reformulată în termenii mai expliciţi ai specificării unei anumite diversităţi, prin altă diversitate. În speţă, s-a spus că genomul unui organism viu conţine toată cantitatea de informaţie care specifică acel organism. Cu alte cuvinte, există o corespondenţă precisă între diversitatea (adică succesiunea celor patru feluri de dezoxiribonucleotide) conţinută în structura unui anumit ADN, specific unui organism, şi diversitatea (adică succesiunea celor 20 feluri de aminoacizi) conţinută în structura proteinelor particulare, caracteristice acelui organism, a căror sinteză ADN o dirijează în mod univoc şi constant.

În general, diversitatea capabilă de specificare biologică conţinută în ADN se numeşte *„informaţie genetică“*. Ea se supune, fără excepţie, tuturor legilor (nomenclatură, operaţiuni formale şi rezultate) din teoria informaţiei, aşa cum este cunoscută în cibernetică şi poate fi analizată în mod formal, deci „măsurată“, ca orice alt tip de informaţie, în unităţi binare*.

---

* singular = bi*nary digit* = bit (engl.) = bit (rom.)
plural = bi*nary digits* = bits (engl.) = biţi (rom.)

Scanned with OKEN Scanner

Cantitatea totală de informație genetică conținută într-un anumit genom particular, oricare ar fi el, se numește *mesajul genetic* al organismului respectiv sau, după caz, al celulei respective. Cu alte cuvinte, un mesaj genetic este un text particular, dar întreg, de informație genetică.

Conținutul mesajului genetic și codificarea lui în natură. Am văzut că individualitatea fiecărei structuri vii (celule) decurge din planul său de organizare, care nu este altceva decît consecința, uneori directă, alteori mai îndepărtată, a funcționării unei anumite „baterii" de proteine (enzime), caracteristică celulei respective. Acest grup caracteristic de proteine (enzime) corespunde în mod biunivoc* unui anumit grup caracteristic de segmente ADN (gene), în a căror structură particulară este specificat (o specificare particulară fiind echivalentă cu un mesaj particular).

Să vedem acum modul în care fiecare proteină (enzimă) este specificată, deci reprezentată, în segmentul ADN corespunzător.

Structuralizarea internă a proteinelor enzime. Se știe că o moleculă de proteină este alcătuită din unul sau mai multe lanțuri polipeptidice, care, la rîndul lor, sînt înșiruiri liniare de aminoacizi (*aa*) legați între ei prin legături peptidice (capătul amino al unui *aa* este legat de capătul carboxi al *aa* supraiacent, iar capătul său carboxi este legat de capătul amino al *aa* subiacent). Așadar, toți *aa* dintr-un lanț își au capetele amino ($—NH_2$) orientate într-un sens și capetele carboxi (—COOH) în celălalt sens. Acest fapt permite descrierea unui capăt carboxi (C-terminal) și a unui capăt amino (N-terminal) pentru fiecare lanț polipeptidic în parte.

Cunoașterea compoziției particulare în *aa* a diferitelor lanțuri polipeptidice și a ordinii aminoacizilor din interiorul fiecărui lanț în parte a devenit posibilă datorită unei metode moderne de analiză (efectuată cu ajutorul dinitroflorbenzenului = DNFB) care a permis desprinderea succesivă a *aa* și identificarea lor

---

* Corespondență biunivocă = corespondență „unu la unu"
$Gena_1$ ... corespunde la, și *numai* la ... $Enzima_1$
$Gena_2$ ... corespunde la, și *numai* la ... $Enzima_2$
$Gena_3$ ... corespunde la și *numai* la ... $Enzima_3$.

unul cîte unul, pornind de la capătul amino al lanțului polipeptidic respectiv.

Pînă acum s-au descris, în natură, peste o sută de tipuri de *aa*, dar dintre aceștia numai 20 apar în mod primitiv în structura lanțurilor polipeptidice în curs de sinteză in vivo.

Modul concret de înșiruire al *aa* în lungul unui anumit lanț polipeptidic particular reprezintă *structura primară* acelui lanț și, implicit, a proteinei rezultate. Din structura primară a unui lanț decurge, ca o consecință directă, modul în care acesta se va înfășura în jurul său alcătuind o structură spațială particulară, *structura secundară*, din care va decurge, la rîndul său, capacitatea de asociere între diferitele puncte apropiate spațial ale aceluiași lanț sau între acesta și alte lanțuri polipeptidice învecinate (prin stabilirea de legături fie saline, fie disulfidice, fie fosfatice sau coordonative), rezultînd astfel o holoproteină completă — *structura terțiară*.

În sfîrșit, anumite structuri terțiare admit adiționarea suplimentară a unei grupări prostetice, rezultînd astfel o heteroproteină.

În concluzie, identitatea unei proteine (mulțimea tuturor proprietăților sale fizice, chimice și biologice) este de la început specificată de către modul în care aminoacizii sînt înșiruiți pe lanțul său polipeptidic primar.

Cum atît lanțurile polipeptidice primare ale tuturor proteinelor native cît și lanțurile polinucleotidice ale ADN sînt liniare*, o corespondență între unitățile (monomerii) alcătuitoare ale acestor două șiruri, adică *aa* în polipeptid și nucleotide în ADN, este foarte ușor de imaginat. Această corespondență, care există între un anumit șir de nucleotide și înșiruirea de *aa* pe care acesta o specifică în mod univoc, reprezintă *codul genetic*.

În termenii teoriei informației, codul genetic reprezintă „gramatica“ unei „limbi“ în care, cu ajutorul a patru feluri de simboluri (cele patru feluri de nucleotide), se pot constitui cel puțin 20 de grupări (cuvinte) cu semnificații distincte (cei 20 de *aa*). Cu alte cuvinte, codul genetic nu este altceva decît regula după

---

* Această „identitate topologică“ (izomorfism) existentă între lanțurile neramificate nucleotidice din ADN și lanțurile neramificate de *aa* din polipeptidul specificat a fost denumită „colinearitatea“ dintre genă și proteină.

Scanned with OKEN Scanner

care se explică biologic conținutul mesajului genetic, adică „semnificația" lui.

Care sînt aceste grupări de litere și ce semnificație are fiecare dintre ele?

Pentru a răspunde la aceste întrebări, să ne oprim puțin asupra noțiunii de „raport de codificare". Măsurători, la început aproximative, iar mai tîrziu din ce în ce mai exacte, efectuate pe sisteme proteino-sintetizatoare acelulare din *E. coli* au arătat că „lungimea în monomeri" a unui lanț polinucleotidic este de trei ori mai mare decît lungimea în monomeri a lanțului polipeptidic, a cărui sinteză o guvernează. Așadar, dacă vom nota cu:

N — numărul de nucleotide din lanțul polinucleotidic

n — numărul de *aa* din lanțul polipeptidic corespunzător

și cu R — raportul de codificare

atunci:

$$R = \frac{N}{n} \approx 3, \text{ deci } N = R \cdot n,$$

Prin lungimea cuvîntului de cod ($= l$) se înțelege numărul de litere ce alcătuiesc „un cuvînt cu sens distinct" în această „limbă" sau, cu alte cuvinte, numărul real de nucleotide ce codifică un *aa*.

Determinarea acestui parametru a stîrnit numeroase discuții. La prima vedere, s-ar părea că $l = R$ și mulți autori au acceptat de la început și fără rezerve acest punct de vedere.

Totuși, o analiză mai riguroasă i-a permis lui R. Wall (1961) să deducă următoarea formulă generală:

$$N = nl - (n-1) \cdot a + r \text{ sau}$$

$$R = \frac{N}{n} = (l-a) + \frac{a+r}{n}$$

în care a este numărul de nucleotide incluse într-o „acoperire" (litere comune între două cuvinte adiacente)

r — rest de nucleotide suplimentare de la sfîrșitul firului, care nu formează o parte a vreunui cuvînt de cod $/(0 \leq r < (l-a)/$

Deci, cu cît $n \to \infty$, cu atît $\frac{a+r}{n} \to 0$, de unde $R \to (l-a)$.

De aci se vede ușor că $R \to 3$ cu cît „n" este mai mare.

Principalul punct al disputei care s-a desfășurat între 1954 și 1962 era problema dacă codul genetic conține sau nu suprapuneri (*overlaps*) între cuvinte sau, astfel spus, dacă două cuvinte adiacente au una sau mai multe litere comune.

Gamow (1956) și o serie de alți autori, bazați pe considerente geometrice, au postulat existența unor astfel de acoperiri, pe care, însă, Crick și școala sa le-au negat.

O prelucrare logică a consecințelor modelului lui Gamow făcută de Brenner (1957) a arătat că acesta nu poate explica toate secvențele de *aa* deja cunoscute, cum ar fi cele din structura insulinei și a unor hormoni hipofizari.

O lucrare experimentală a lui Crick, Barnett, Brenner și Watts Tobin (1961) a arătat că introducerea („inserția") cu ajutorul proflavinei a unui nucleotid suplimentar în ADN-ul fagului T_4 ducea la inactivarea genei corespunzătoare. Deleția ulterioară a unui nucleotid, altul decît cel introdus, în interiorul aceleiași gene, ducea la reactivarea parțială a cistronului respectiv.

Pe de altă parte, inserția succesivă a trei nucleotide suplimentare ducea, după introducerea celui de-al treilea, la reluarea activității genei respective. Același fenomen era observat și în cazul deleției a trei nucleotide.

Aceste date au fost interpretate în sensul producerii unei „resincronizări" a mesajului genetic.

Faptul că resincronizarea se producea după inserția sau deleția unui număr de nucleotide *„multiplu al lui trei"* confirma valoarea „3" pentru raportul de codificare și părea să confirme și identitatea $R = l$.

În același an însă, R. Wall (1961) a arătat că această proprietate de resincronizare era comună unei familii întregi de coduri la care $(l—a) = 3$, și unde:
$a = 0$ în cazul unui cod fără acoperiri și
$a > 0$ (adică $a = 1$ sau $a = 2$) în cazul unui cod cu acoperiri. Bazat pe o serie de considerente suplimentare, Wall considera ca cel mai verosimil un cod cu acoperiri în care $l = 4$, $a = 1$, și $l—a = 3$.

Totuși, faptul că Wittman a demonstrat pe virusul mozaicului tutunului (TMV) că alterarea unei singure baze din ARN viral

Scanned with OKEN Scanner

cu ajutorul NO_2H duce întotdeauna la alterarea *unui singur aminoacid* a încheiat această dispută, excluzînd posibilitatea ca codul genetic să conțină acoperiri. Deci, în ultimă instanță:

$$R = l = 3 \text{ și } a = 0.$$

Menționăm, în aceeași ordine de idei, faptul că experiențele de resincronizare a mesajului genetic, efectuate de Crick, Barnett, Brenner și Watts Tobin, au exclus posibilitatea existenței unor „semne de punctuație" (virgule) în interiorul genelor. Discriminarea cuvintelor unul de altul se face pur și simplu prin numărarea diferitelor grupe de cîte trei nucleotide, pornind de la un capăt al șirului, indiferent de semnificația tripletelor rezultate.

În concluzie, codul genetic prevede existența de cuvinte cu lungimea de trei litere, fără acoperiri între ele, și care sînt „citite" succesiv pornind de la un capăt (3′) al genei către celălalt (5′). Cu alte cuvinte, fiecare triplet nucleotidic din acizii nucleici determină amplasarea în dreptul său a unui *aa* în lanțul polipeptidic.

Să vedem în continuare care este numărul de cuvinte distincte posibile în limitele codului genetic. Un calcul simplu ne arată că o limbă construită cu ajutorul unui alfabet de patru litere, A, G, C, T (U), în care lungimea fiecărui cuvînt este egală cu trei litere, permite formarea a $4^3 = 64$ de cuvinte distincte.

Remarcăm cu acestă ocazie că prima sugestie referitoare la valoarea de 3 atribuită lungimii cuvîntului de cod a fost făcută, de asemenea, în urma unui astfel de calcul (Gamow, 1954).

Dacă $l = 1$, atunci numărul de cuvinte posibile $= 4^1 = 4$ (prea puțin pentru a specifica 20 *aa*)

Dacă $l = 2$, atunci numărul de cuvinte posibile $= 4^2 = 16$ (tot prea puțin)

Dacă $l = 3$ atunci numărul de cuvinte posibile $= 4^3 = 64$ (mai mult decît suficient);

Prima putere a lui 4, a cărei valoare depășea numărul 20, fiind 3, s-a postulat că lungimea cuvîntului de cod era egală cu trei litere.

Scanned with OKEN Scanner

Totuși, faptul că din cele 64 de cuvinte (triplete nucleotidice distincte) posibile, numai 20 ar fi trebuit să aibă sens a dat naștere la o serie de ipoteze referitoare la cele 44 de triplete „neutilizate". Una dintre ipoteze susține că aceste cuvinte nu ar avea sens, nespecificînd nici un aminoacid.

O altă alternativă admite existența de sinonimii în interiorul codului, în sensul că mai multe cuvinte de cod (triplete nucleotidice diferite) ar putea specifica un același aminoacid. Totuși și în acest caz se admitea existența unor cuvinte fără sens, bineînțeles mai puține la număr, a căror formare ar fi justificat inactivarea, parțială sau totală, a genei care le conținea. Un astfel de cod, care conține sinonimii, se numește „cod degenerat".

Experiențele efectuate începînd din 1961 au elucidat în bună parte această problemă, în sensul confirmării ultimei ipoteze.

Transmiterea ereditară a mesajului genetic și realizarea lui în configurația metabolică a structurilor vii

Am văzut că ADN-ul celular se găsește în interiorul unei formațiuni specializate, numită cromatină, care în cursul mitozei se fragmentează în segmente mai scurte, numite cromozomi. ADN-ul conține mesajul genetic al celulei respective, înscris sub forma înșiruirii particulare a dezoxiribonucleotidelor de pe cele două lanțuri ale sale. El formează tiparul după care vor avea loc, alternativ, cînd sinteza unui nou ADN, cînd sinteza de ARN destinat a fi utilizat în cursul procesului de „construire" a proteinelor-enzime proprii.

Ambele tipuri de sinteză au loc conform legii complementarității bazelor, așa cum s-a arătat mai sus: ARN-m sintetizat în nucleu migrează în citoplasmă, unde se fixează pe ribozomi.

Agregatele ribozomice. Am arătat mai sus că ARN-m migrează din cromozom imediat după ce a fost sintetizat, ajungînd pînă la nivelul ribozomilor de care se fixează pe „umerii lor mici" (30 S). Ribozomii, care sedimentează la 70 S, sînt alcătuiți din două subunități: 30 S și 50 S.

Scanned with OKEN Scanner

În felul acesta rezultă o unitate funcțională compusă (morfobiochimică), alcătuită dintr-o moleculă de ARN-m și cei cîțiva ribozomi (2—6) de care s-a fixat.

Această unitate funcțională compusă, rezultată din agregarea a 2—6 ribozomi cu ajutorul unei molecule de ARN-m se numește „agregat ribozomic" sau „ergozom" (Wettstein și colab., 1963) sau „polisom". Ținînd seama de faptul că ribozomii au o inerție metabolică foarte mare (uneori de două-trei generații), deci au și viața foarte lungă, în timp ce ARN-m are o viață foarte scurtă și dat fiind că starea de agregare se datorește firului de ARN-m, vom înțelege pentru ce ergozomii sînt unități funcționale tranzitorii, a căror durată de viață este limitată de către molecula de ARN-m care îi menține ca atare. O dată cu „consumarea" firului respectiv de ARN-m, ergozomul se dezagregă, punînd în libertate ribozomi intacți, care vor putea fi din nou utilizați, fiecare în parte, de către prima moleculă de ARN-m capabilă să se fixeze pe „umerii lor mici" rămași acum liberi.

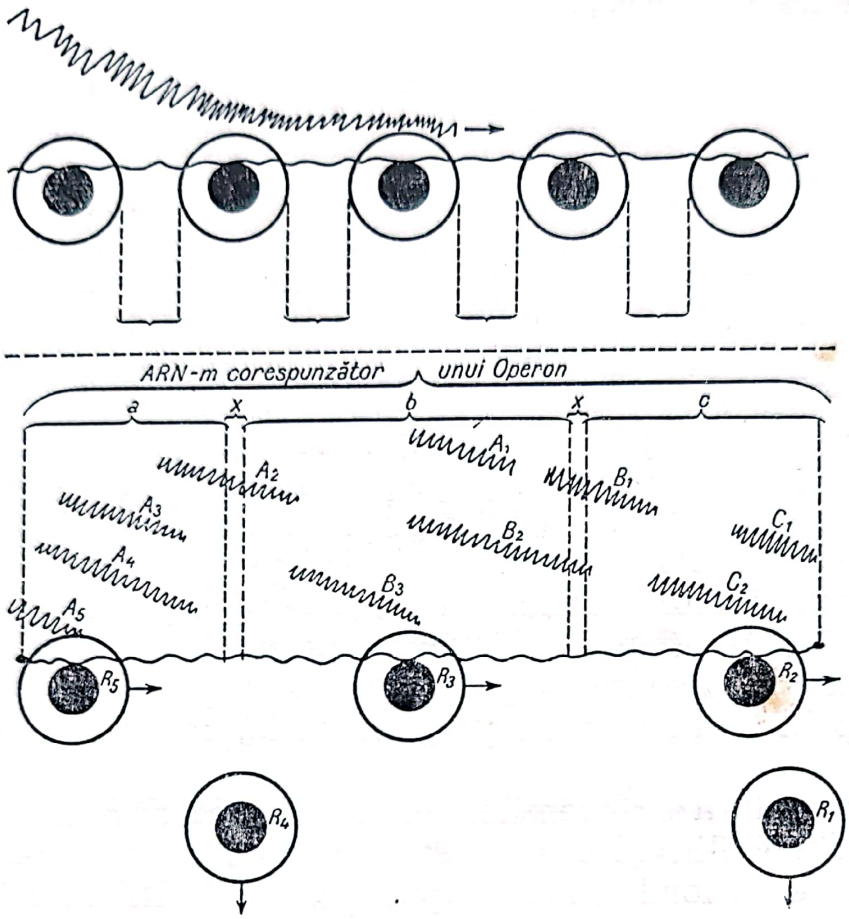
Existența reală a ergozomilor, care fuseseră numai deduși de Wettstein, Staehelin și Noll (1963), a fost evidențiată recent prin fotografierea lor la microscopul electronic. Ribozomii reprezintă deci suportul pentru sinteza proteinelor, dar care devin activi numai după ce sînt uniți în polizomi prin intermediul ARN-m. Holtin (1964) arată că aceiași ribozomi pot fi utilizați de mai multe ori în diferite agregate ribozomice timp de 14—24 de ore, cît este media lor de viață.

Cum se face transcrierea informației genetice? Am văzut că un anumit ADN particular, care aparține unei anumite celule particulare, se caracterizează prin compoziția sa în cele patru feluri de dezoxiribonucleotide și mai ales prin modul în care aceștia se succed în lungul celor două fire ale sale.

În lungul unuia dintre aceste fire care se comportă ca primer, fiind denumit „firul transcris" sau „firul citit", se face biosinteza ARN-m pornind de la un capăt (3′ OH) și progresînd spre capătul opus (5′ OH).

Întrucît sinteza lui se face după principiul complementarității, (dAMP → UMP, dGMP → CMP, dCMP → GMP, dTMP → AMP), firul ARN-m nou sintetizat va fi, din punct de vedere informațional, un fel de „imagine în oglindă" a firului pe care

Scanned with OKEN Scanner



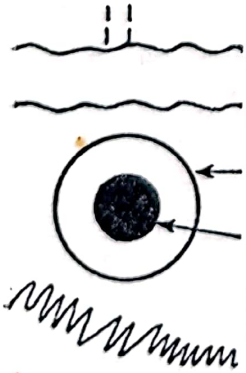
25. Modelul structural și funcțional al polizomului:

R_1, R_2 ... R_5 — ribozomi (indicii reprezintă ordinea în care s-au „rulat" în lungul ARN-m, determinînd sinteza de lanț polipeptidic)

A, B, C ... lanțuri polipeptidice sintetizate conform mesajelor genetice conținute în cistronii corespunzători

a, b, c ... segmente din lanțul ARN-m, corespunzătoare cistronilor $\overline{a}$, $\overline{b}$, $\overline{c}$.

x ... triplete ribonucleotidice (cuvinte de cod sau codoni) nonsens (puncte în care probabilitatea de desprindere a ribozomilor este maximă și sinteza de lanț polipeptidic se întrerupe, pentru a fi reluată începînd de la primul triplet următor „cu sens".



triplet nonsens

lanț ARN-m

„umărul mare" (50 S)

„umărul mic" (30 S)

} al unui ribozom (73 S)

lanț polipeptidic nou sintetizat („în curs de sinteză", de exemplu C_2, B_3, A_5 sau „gata sintetizat și desprins", de exemplu A_1, A_2, A_3, A_4).

îl *transcrie*. Subliniem în mod special termenul de transcriere, întrucît succesiunea bazelor de pe ARN-m este determinată mecanic de către cea a bazelor primerului, indiferent de semnificația pe care succesiunea respectivă ar avea-o din punctul de vedere al sensului mesajului genetic. Este vorba de o „copiere oarbă", „fără descifrare" a unui text scris cu ajutorul a patru simboluri (dAMP, dGMP, dCMP, și dTMP) într-un alt text construit cu alte patru simboluri (AMP, GMP, CMP și UMP) după o regulă precisă, cea a complementarității bazelor:

dAMP → UMP
dGMP → CMP
dCMP → GMP
dTMP → AMP

Așadar, toate moleculele de ARN-m sintetizate de către un primer constant, așa cum este ADN-ul, vor fi *identice între ele*. Acestea vor putea funcționa ca tipar pentru biosinteza proteinelor numai în momentul în care s-au așezat în poziție corectă, grație ribozomilor de care se fixează.

În consecință:

ARN-m reprezintă tiparul potențial, dar încă inactiv cît e singur, pentru biosinteza proteinelor (tipar incomplet);
Ribozomii formează suportul nespecific care permite „funcționarea" ca tipar a ARN-m;
Ergozomii (ARN-m + 2 — 6 ribozomi) constituie tiparul complet sau real.

Citirea (descifrarea) informației genetice. Din momentul formării ergozomului ca atare, acesta va funcționa ca tipar real, pornind de la capătul ARN-m, unde ribonucleotidul extrem expune liber polul său 5′ fosfat. În acel punct, în dreptul primelor trei ribonucleotide se va insera molecula de ARN-t care aduce primul aminoacid al lanțului polipeptidic în curs de formare. Imediat după aceea, în dreptul următoarelor trei ribonucleotide ale ARN-m se va insera al doilea ARN-t, care aduce al doilea aminoacid, și așa mai departe, pînă cînd se completează lanțul.

Așadar, fiecare grup de cîte trei ribonucleotide (triplet ribonucleotidic) din ARN-m determină amplasarea în dreptul său a unui anumit fel de aminoacid din cei 20 posibili, pe care îl

Scanned with OKEN Scanner

specifică. El funcționează deci în calitate de cuvînt de cod alcătuit din trei simboluri și a fost numit codon (Crick). Am văzut însă mai sus că un cod alcătuit cu ajutorul a patru litere grupate cîte trei permite formarea a 64 de cuvinte (codoni) posibile. Altfel spus, există 64 de codoni posibili, dintre care numai 20 sînt strict necesari pentru a permite codificarea oricărui lanț polipeptidic alcătuit din 20 de feluri de aminoacizi. Din ceilalți 44, unii *nu* au sens, adică nu codifică nici un aminoacid, iar alții sînt sinonimi cu unii din cei 20 codoni *strict necesari*. Așadar, cei 64 de codoni posibili se pot împărți în codoni cu sens (20 strict necesari + sinonimele lor) și codoni fără sens (care determină întreruperea, în dreptul lor, a lanțului polipeptidic nou sintetizat).

În cazul în care toți codonii (toate tripletele ribonucleotidice) aparținînd unui fir de ARN-m au un sens, (indiferent care), atunci în lungul acestui fir se va amplasa un șir neîntrerupt de aminoacizi, care vor fi apoi asamblați într-un lanț polipeptidic ce va fi eliberat în citoplasmă după desăvîrșirea sintezei.

Această operație de „traducere" a unui text ribonucleotidic într-un text polipeptidic corespunde, de fapt, unei adevărate „citiri" a mesajului genetic inițial, conținut în ADN și transcris în ARN-m, care astfel se realizează fenotipic.

Detaliile biochimice ale procesului de descifrare a mesajului genetic. Am văzut că textul „definitiv" și „lizibil" al mesajului de descifrat este reprezentat de către tiparul ergozomic (ARN-m fixat de ribozomi, astfel încît să fie corect expus lecturii).

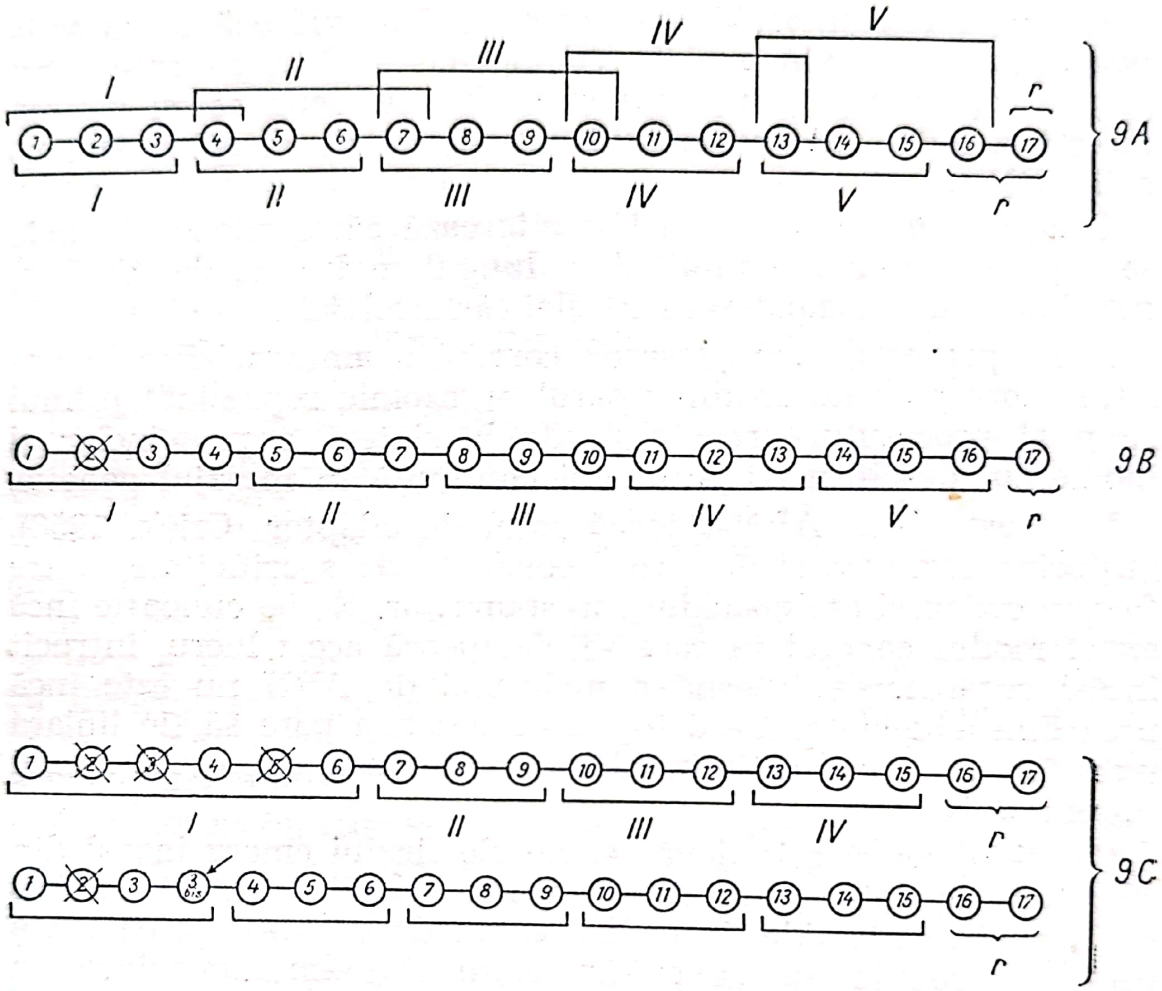
Cum se efectuează însă lectura ca atare? În ce fel se stabilește concret corespondența dintre codoni și aminoacizi și cum apar proteinele?

Pentru ca aminoacizii să poată ajunge din *pool*-ul metabolic celular la tiparul ergozomic, ei trebuie să fie „activați" și transportați la ergozom.

Acest timp preliminar se execută sub acțiunea unor enzime activatoare, numite enzime de pH = 5*, care determină adiționarea de către fiecare aminoacid, la capătul său carboxilic, a

* Se numesc astfel pentru că au fost sedimentate de către Hoagland și Zamecnik din supernatantul de ficat dializat, după ce acesta a fost acidulat la pH = 5.

Scanned with OKEN Scanner



26. „Gramatica" mesajului genetic și modul în care acesta se poate desincroniza și resincroniza.

O = Dezoxiribonucleotide în lanț (fiecare cerculeț reprezintă cîte un nucleotid, iar cifra din interior, numărul său de ordine).
⌐ ¬ = Delimitarea unui „cuvînt de cod" în cazul codului „cu acoperiri".
⌐ ¬ = Delimitarea unui „cuvînt de cod" în cazul codului „fără acoperiri".
⌐ ¬ = O „acoperire" (literă comună) între două cuvinte adiacente.
r = „rest" de nucleotide. La sfîrșitul șirului, prea mic ($r < 3$) pentru a putea alcătui un „cuvînt de cod". Nu se „citește".
⊗ = „Deleție" punctiformă (Nucleotid distrus, „eliminat" din textul mesajului).
= „inserție" punctiformă (nucleotid supraadăugat prin mutație, adică „inserat" în text).

unei molecule de ATP. Aceasta, prin desfacerea legăturii sale fosforice macroergice, furnizează energia necesară activării. Conjugatul *aa* — ATP format, poartă numele de aminoacil-adenilat. Menționăm faptul că fiecărui aminoacid îi corespunde cîte un tip de enzimă activatoare proprie.

Complexele aminoacid-adenilat-enzimă de pH = 5, adică aminoacizii activați, vin apoi în contact cu ARN-t, cu care intră în reacție, determinînd eliminarea ATP și a enzimei și legarea directă a ARN-t de aminoacid sub formă de complex aminoacil-ARN-t.

Complexele aminoacil-ARN-t migrează către ergozomi, unde se înșiruie, unul cîte unul, de-a lungul moleculei de ARN-m, pornind de la un capăt al moleculei către celălalt.

Acest proces de „amplasare" corectă a aminoacizilor în pozițiile corespunzătoare din tiparul ergozomic reprezintă primul timp al procesului propriu-zis de biosinteză a proteinelor și momentul descifrării informației conținută în mesajul genetic.

La acest nivel, ARN-t joacă rolul de adaptor (Crick, 1958), mijlocind legătura și deci corespondența de specificitate dintre fiecare codon și aminoacidul corespunzător. Nu se cunoaște încă exact modul concret în care se efectuează acest lucru, întrucît însăși organizarea internă a moleculei de ARN nu este încă prea bine elucidată. Dacă topologia acesteia pare să fie liniară (vezi fig. 17), compoziția în ribonucleotide este cunoscută numai aproximativ.

Se știe doar că cele două capete ale firului emerg inegal din structura buclată, unul cu un ribonucleotid GMP și celălalt cu trei ribonucleotide, în ordine CMP, CMP, AMP, și că bucla centrală trebuie să „expună" către ARN-m „imaginea în oglindă" a codonului corespunzător, care a fost numită în consecință „nodoc" sau „anticodon"; în felul acesta este rezolvat unul din capetele informaționale ale ARN-t, cel dinspre codon.

Cum arată celălalt capăt informațional și motivul pentru care fiecare nodoc determină în mod univoc capacitatea de a fixa un singur tip de aminoacid, rămîne o problemă deschisă.

Al doilea timp al biosintezei îl reprezintă procesul de „asamblare" al aminoacizilor care, fiind gata amplasați corect, alcătuiesc un lanț virtual, astfel încît să rezulte lanțul *real* polipeptidic. Întrucît lanțul polipeptidic este sintetizat pornind de la capătul liber amino, capătul carboxi reprezintă „punctul activ de progresiune" al sintezei. La mamifere lanțul peptidic se alungește cu o rată de aproximativ doi aminoacizi pe secundă (Hultin, 1964).

Scanned with OKEN Scanner

Acest proces are loc cu ajutorul a două enzime: fosfoenol-piruvat kinaza și o enzimă de transfer, care își datorește activitatea grupării tiolice, în prezența a doi sau trei compuși simpli: fosfoenol piruvat și GTP, care este sursa specifică de energie. Deși asamblarea a putut fi reprodusă in vitro în condițiile de mai sus, nu s-a putut încă descifra rolul exact pe care-l joacă fiecare dintre aceste componente, în afară de faptul că rezultanta lor finală este formarea legăturilor peptidice dintre aminoacizii alăturați, astfel încît să se formeze lanțul polipeptidic.

În sfîrșit, timpul trei este reprezentat de către *„eliberarea"* lanțurilor polipeptidice nou formate în *pool*-ul citoplasmatic. El pare să se producă fără vreo modificare a structurii ribozomilor, dar implică dezagregarea, la un anumit moment, a structurii ergozomice.

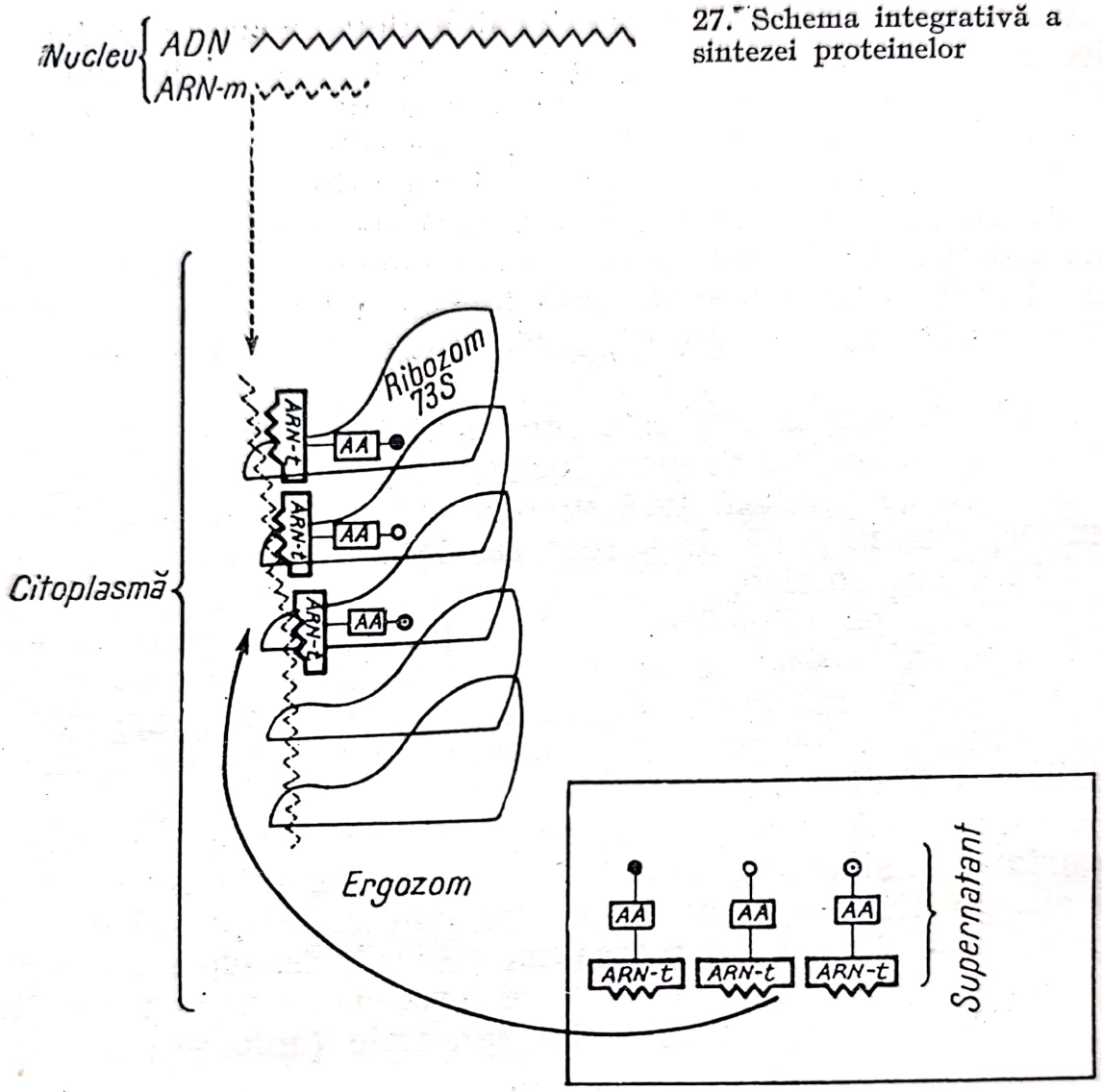
Imediat după eliberare, un lanț polipeptidic nou sintetizat va începe să se spiralizeze și să se plicatureze în conformitate cu direcția și mărimea unghiurilor de repliere implicate de către structura lor primară (succesiunea particulară a aminoacizilor alcătuitori).

Apoi, tot în funcție de consecințele mai mult sau mai puțin îndepărtate ale structurii sale primare, el va alcătui o nouă enzimă, fie singur, fie asociindu-se cu alte lanțuri polipeptidice, identice sau diferite (dar întotdeauna același), fie chiar adiționînd o grupare prostetică. Activitatea proteinei enzimei rezultate se va afla la baza caracterului fenotipic (unic sau multiplu) guvernat de către gena respectivă.

Caracterele fenotipice a căror realizare depinde de activitatea unei singure gene, sau mai bine zis de enzima pe care o implică aceasta, se numesc *caractere monomerice*. Determinismul lor genetic este ușor de descifrat, fiind foarte simplu.

Caracterele fenotipice rezultate din activitatea, mai mult sau mai puțin interdependentă, a mai multor enzime, deci și a mai multor gene, se numesc *caractere polimerice*. Determinismul lor genetic, fiind extrem de complex, este mult mai greu de discriminat. Lipsa de înțelegere a acestui fapt stă la baza opiniei eronate (care din păcate e încă destul de răspîndită), după care multe din caracterele fenotipice *nu ar fi genetic determinate*.

Scanned with OKEN Scanner



27. Schema integrativă a sintezei proteinelor

Dicționarul genetic. Faptul că biosinteza lanțurilor polipeptidice are loc exact așa cum am arătat mai sus a fost nu numai dedus din interpretarea arbitrară a unei multitudini de rezultate experimentale, ci *și confirmat*, în modul cel mai neechivoc cu putință, prin experiențe concludente, care au permis reconstituirea *in vitro* a întregului proces de biosinteză. Cu această ocazie s-a putut descifra și o bună parte a codului genetic, putîndu-se construi adevărate liste de cuvinte (liste de codoni) cu semnificațiile lor concrete.

Realizarea mesajului genetic se face, așa cum am arătat mai înainte, în două etape: (1) transcrierea mesajului genetic de

pe „firul citit" al ADN-ului pe ARN-m și (2) descifrarea mesajului genetic transcris în ARN-m.

Prima etapă a fost reconstituită în cursul experiențelor de biosinteză a unui fir poliribonucleotidic (ARN-m) pornind de la un primer ADN, cu ajutorul a patru feluri de ribonucleotizi trifosfatați: ATP, GTP, CTP, UTP și a unei enzime, ARN-polimeraza, în prezența Mg^{++} (vezi detalii pag. 84).

A doua etapă a fost reconstituită pentru prima oară în 1961 de către N. W. Nirenberg și Matthaei. Aceștia au construit un sistem acelular pentru biosinteza lanțurilor polipeptidice cu ajutorul unui poliribonucleotid sintetic (poli U) care, introdus într-o suspensie de ribozomi extrași din *E. coli*, în prezența de ARN-t, ATP, GTP, Mg^{++}, enzimă activatoare și fenilalanină (Phe) marcată cu C^{14}, a determinat incorporarea fenilalaninei într-un lanț polipeptidic omogen — polifenilalanină.

Sinteza acestui polipeptid, care a putut fi reprodusă de fiecare dată cu ajutorul acelorași reactanți, a demonstrat compoziția în ribonucleotide a primului cuvînt de cod identificat experimental: tripletul UUU ⟶ Phe.

În decurs de cîteva luni, două laboratoare, cel al lui M. W. Nirenberg și cel al lui S. Ochoa, au testat, în același sistem, diferite tipuri de alte poliribonucleotide sintetice, căutînd să identifice și alți codoni. Astfel, poli A s-a dovedit capabil să stimuleze încorporarea lizinei într-un fir de polilizină (deci tripletul AAA = Lys poli C a codificat poliprolina (deci tripletul CCC = Pro), iar poli G a stimulat încorporarea glicinei (deci tripletul GGG = Gly).

Cercetări efectuate cu ajutorul copolimerizării de ribonucleotide de mai multe feluri într-un același lanț au permis observarea încorporării și a altor aminoacizi, despre care s-a dedus că sînt codificați prin codoni alcătuiți din mai multe feluri de litere. Compararea raportului cantitativ dintre diferitele tipuri de ribonucleotide care participau la structura copolimerului, cu cel dintre aminoacizii încorporați în lanțurile polipeptidice rezultate a permis, la început, numai deducerea aproximativă a „compoziției în litere" a cuvintelor de cod respective, ordinea literelor în interiorul codonilor neputînd fi determinată în mod neechivoc pînă în 1965.

Scanned with OKEN Scanner

În 1965, Nirenberg și colaboratorii au reușit însă să pună la punct o tehnică de lucru (bazată pe utilizarea trinucleotidelor sintetice), care le-a permis să descifreze, în cursul primelor luni ale anului, semnificațiile exacte a 61 din cei 64 codoni teoretic posibili.

Iată un tabel sinoptic cu semnificațiile codonilor, așa cum au fost stabiliți de Nirenberg (1965):

"DICȚIONARUL" CODULUI GENETIC
LISTA DE CUVINTE (CODONII) ȘI SEMNIFICAȚIILE LOR (AMINOACIZII CORESPUNZĂTORI)
(DUPĂ NIRENBERG ȘI COLABORATORII, 1965)

Nr. crt.	LISTA DE SEMNIFICAȚII		LISTA DE CUVINTE	
	Semnificația (=aminoacidul)	Presc.	Regula de formare a cuvintelor	Cuvintele ca atare (=codonii)
1	Alanină	Ala	GCx	GCU, GCC, GCA, GCG
2	Arginină	Arg	CGx—(U?), AGA	(CGU?), CGC, CGA, CGG,+ AGA
3	Asparagină	Asn	AApir.	AAU, AAC
4	Acid aspartic	Asp	GApir.	GAU, GAC
5	Cysteină	Cys	UGpir.	UGU, UGC
6	Glutamină	Gln	CApur.	CAA, CAG
7	Acid glutamic	Glu	GApur.	GAA, GAG
8	Glycină	Gly	GGx	GGU, GGC, GGA, GGG
9	Histidină	His	CApir.	CAU, CAC
10	Izoleucină	Ilu	AUpir.+(AUA?)	AUU, AUC, + (AUA?)
11	Leucină	Leu	UUpur—(A')+ CUpir—(U')+ (CUG?)	(UUA'), UUG, + (CUU'), CUC,+ (CUG?)
12	Lysină	Lys	AApur.	AAA, AAG,
13	Metionină	Met	AUG	AUG
14	Phenylalanină	Phe	UUpir.	UUU, UUC
15	Prolină	Pro	CCx	CCU, CCC, CCA, CCG

Nr. crt.	LISTA DE SEMNIFICAȚII: Semnificația (=aminoacidul)	LISTA DE SEMNIFICAȚII: Presc.	LISTA DE CUVINTE: Regula de formarea a cuvintelor	LISTA DE CUVINTE: Cuvintele ca atare (=codonii)
16	Serină	Ser	UCx—(A'), + AGpir—(U')(—C?)	UCU, UCC, (UCA') UCG+(AGU'), (AGC?)
17	Threonină	Thr	ACx	ACU, ACC, ACA, ACG
18	Tryptophan	Try	UGG	UGG
19	Tyrosină	Tyr	UApir.	UAU, UAC
20	Valină	Val	GUx	GUU, GUC, GUA, GUG
21 a.	NONSENS „Amber“	—	UApur.	UAG.
21 b.	NONSENS „Ochre“	—	UApur.	UAA
—	Incă nedeterminate	—	—	UGA, CUA, AGG

Legenda: — x: orice fel de bază azotată (=U, C, A sau G)
— pir: orice pirimidină (U= sau C)
— pur: orice purină (=A sau G)
—(XYZ'): codon dedus din calculul înlocuirilor de aminoacizi
—(XYZ?): codon a cărui semnificație este încă neconcludent demonstrată experimental.

Din examinarea atentă a tabelului se observă că:

1. Unii aminoacizi sînt specificați de către mai mulți codoni diferiți (de exemplu, alanina este specificată nu numai de GCU, ci și de GCC, de GCA și de GCG). Deci, există *sinonimii* între cuvinte: *codul este degenerat*. Degenerarea se referă, în general, mai ales la litera a 3-a și se face mai ușor între baze din aceeași familie: U și C (= pirimidină) sau A și G (= purine).

2. Există codoni care nu specifică nici un aminoacid și determină întreruperea — în dreptul lor — a lanțului polipeptidic în curs de sinteză (de exemplu UAG și UAA). Deci, există codoni „fără sens“ (nonsens).

3. Unii codoni specifică mai mult decît un aminoacid (de exemplu UUU, care specifică în mod normal fenilalanina,

Scanned with OKEN Scanner

poate stimula, în anumite condiții de mediu, și încorporarea leucinei, cu al cărei codon CUU seamănă foarte mult din punct de vedere steric). Deci, unele cuvinte sînt „ambigue" (caz, însă, extrem de rar).

Toate aceste observații nu fac decît să confirme corectitudinea modelului, astăzi general acceptat, pentru descrierea substratului material al informației genetice. Acest model este compatibil cu neregularitățile de transmitere a informației genetice cunoscută azi. Astfel, vedem că înlocuirea unui dezoxiribonucleotid din dublul helix ADN cu altul, în cursul unei replicări „incorecte", spontană sau indusă, duce la sintetizarea constantă în dreptul genei nespecifice a unui ARN-m cu o „eroare corespunzătoare". Ribonucleotidul din acel punct al ARN-m va corespunde dezoxiribonucleotidului „greșit" din ADN primer și deci codonul corespunzător va diferi cu o literă de cel original.

Privind tabelul, vom constata că modificarea unei litere dintr-un codon are ca rezultat, în mod obligatoriu, transformarea acestuia într-un alt codon: în cazurile în care acesta este sinonim cu cel original (deci codifică același aminoacid, adică cel „corect"), mutația va rămîne „neexprimată" fenotipic: proteina sintetizată va fi tot cea „normală". În cazurile în care acesta va fi diferit ca sens de cel original (deci codifică un alt aminoacid) mutația va altera într-o anumită măsură „sensul" mesajului, determinînd încorporarea, în dreptul acelui codon, a unui aminoacid „greșit": Proteina a cărei sinteză o determină va avea o compoziție „anormală" și funcționalitatea oarecum modificată (mutație *missense* = cu sens greșit).

În fine, atunci cînd codonul nou format este UAG sau UAA (deci nu specifică nici un aminoacid) lanțul polipeptidic se va întrerupe în dreptul codonului modificat (datorită lipsei aminoacidului corespunzător). Aceste mutații se numesc nonsens (fără sens). Aceste fenomene vor fi studiate însă mult mai detaliat la capitolul despre mutații.

În sfîrșit, o experiență recentă a lui Leder și colab. (1963) a reconstituit integral procesul, cuplînd ambele etape. S-a reușit sintetizarea in vitro de peptide, pornind de la oligodezoxiribonucleotide sintetice.

Scanned with OKEN Scanner

Problema punctuației. Am văzut pînă acum că în lungul unui lanț poliribonucleotidic (ARN-m), lectura se face neîntrerupt, pornind de la un capăt al său (5′) către celălalt (3′). Mai exact, cuvintele de cod sînt discriminate unul de altul *nu* în funcție de sensul mesajului, *nici* grație unor virgule, adică unor modificări structurale care să permită despărțirea „chimică" a fiecărui codon de cei doi codoni alăturați, ci prin numărarea nucleotidelor pe grupuri de cîte 3. Codul este *neacoperit* și *nu* conține virgule.

Se pune atunci problema modului în care sînt despărțite genele una de alta, astfel încît fiecăreia să-i corespundă cîte o proteină individuală, separată structural de cele vecine.

Inițial s-a crezut că „articulațiile" dintre două gene alăturate ar explica, prin vreo neregularitate chimică, întreruperea lanțului de ARN-m, a cărui lungime, egală cu a genei, determină lungimea corespunzătoare a lanțului polipeptidic, a cărui sinteză o guvernează. Neregularitatea chimică menționată mai sus ar fi trebuit să corespundă „cudurilor" descrise de Taylor (vezi pag. 75) în dreptul legăturilor 3′—3′ și 5′—5′.

Date mai recente (M. N. Ames și R. G. Martin, 1964) arată însă că o moleculă de ARN-m neîntreruptă corespunde unui operon întreg, deci unui grup de gene solidarizate într-o singură unitate funcțională. Această moleculă ar fi „citită" concomitent cu ajutorul mai multor „ribozomi" care „rulează" sub ea la o oarecare distanță unul de altul (vezi fig. 25).

Lungimea moleculei de ARN-m ar conține, din loc în loc, cîte un triplet nonsens, care ar corespunde „limitei" dintre două gene alăturate, determinînd separarea în acel loc a celor două lanțuri polipeptidice determinate de către cele două gene adiacente. Acest triplet ar reprezenta în același timp un punct „nefavorabil" pentru rulajul ribozomilor, care, la acest nivel, ar avea o probabilitate de „desprindere din agregat" mai mare.

Astfel s-ar explica și numărul din ce în ce mai mic de lanțuri polipeptidice identice, a căror sinteză este posibilă, cu cît ne apropiem de capătul distal al unui operon.

În acest caz, punctele de sudură (3′—3′ și 5′—5′) ale ADN-ului prevăzute de modelul lui Taylor ar corespunde extremităților unui operon, ele fiind principalele semne de punc-

Scanned with OKEN Scanner

tuație „chimică". Tripletele nonsens care delimitează extremitățile lanțurilor polipeptidice ar reprezenta o punctuație secundară „informațională".

Așadar, *operonul* reprezintă o porțiune de ADN neîntreruptă care sintetizează o moleculă neîntreruptă de ARN-m. ARN-m conține însă puncte de discontinuitate informațională, care delimitează între ele lanțurile polipeptidice adiacente. Fiecărui lanț polipeptidic îi corespunde un segment de ADN numit *cistron*.

Acest concept „biochimic", datorit lui Benzer, corespunde în fond conceptului clasic de „genă" cu care poate fi echivalat.

În consecință, există următoarele corespondențe:

Un operon	——→	un ARN-m	——→ guvernează sinteza enzimelor de pe o întreagă „cale metabolică"
Un cistron	——→ segment ARN-m cuprins între două triplete nonsens		——→ un polipeptid (viitoare proteină eventual cu funcție enzimatică)

Realizarea mesajului genetic la pluricelulare. Am văzut că, în cazul ființelor monocelulare, mesajul genetic celular se confundă cu cel al organismului întreg.

În cazul ființelor pluricelulare, situația este mai complexă. O ființă pluricelulară este alcătuită dintr-o mulțime de celule care rezultă din reproducerea asexuată a uneia singure — oul (zigotul). Din acest punct de vedere, macroorganismul ar putea fi considerat ca o clonă descendentă din zigot, cu singura corectură că membrii clonei (celulele), deși posedă genomuri identice, diferă unii de alții atît morfologic cît și funcțional (citodiferențierea). Acest ultim fenomen, încă neelucidat ca mecanism, pare să se explice totuși printr-o realizare inegală a diferitelor porțiuni din mesajul genetic structural al diverselor celule, deși toate prezintă potențialități inițiale identice. Interacțiunile epigenetice dintre diferitele celule și, probabil, anumite modificări ireversibile produse în cursul ontogenezei fac însă ca potențialitățile diminuate cu timpul să nu mai poată fi recuperate (ireversibilitatea cotodiferențierii).

Scanned with OKEN Scanner

Celulele germinative, singurele care-și păstrează potențialitatea generală intactă, suferă la un moment dat o diviziune reducțională, care asigură, prin fenomenul sexual consecutiv, recombinarea seturilor genetice furnizate de către cei doi părinți, cu ocazia fiecărei generații. Zigotul rezultat va reprezenta din nou celula inițială a viitorului descendent.

Există motive foarte puternice să credem că în mesajul genetic al zigotului există codificată, nu știm însă cum, și informația genetică referitoare la viitoarea citodiferențiere.

Reglajul genetic

Reglarea genetică a biosintezei proteinelor. O serie de lucrări publicate în urmă cu cîțiva ani raportau faptul că diverse organisme sintetizează anumite enzime numai în prezența substratului exogen asupra căruia enzima în cauză își exercită acțiunea. De asemenea, se observase că la un moment dat, cînd cantitatea unui produs final depășea o anumită limită, enzimele ce catalizau transformările substanței precursoare pînă la acest metabolit final încetau să se producă. Aceste două observații au dus la concluzia că diversele căi metabolice ale organismelor sînt supuse unor mecanisme de reglare. Dat fiind însă că particularitățile dinamice ale metabolismului unei specii se transmit de la o generație la alta, se impunea premisa logică după care aceste mecanisme de reglare metabolică sînt determinate de anumite modificări funcționale survenite la nivelul materialului ereditar. În cele ce urmează vom expune cîteva date asupra determinanților genetici care controlează aceste mecanisme.

Reacția de inducție enzimatică. De peste 60 de ani, mai mulți cercetători observaseră că anumite enzime se formează numai în prezența substraturilor lor specifice. În aceste cazuri, substratul exogen poartă numele de inductor pentru că induce sinteza enzimei, iar fenomenul respectiv se numește reacție de inducție enzimatică.

Reacția de represie enzimatică. În 1953, Monod și Cohen-Bazire (citați de Jacob și Monod) au constatat că formarea triptofansintetazei este inhibată de către triptofan sau de anu-

Scanned with OKEN Scanner

miți analogi ai triptofanului. Acest fenomen prin care produsul final al unei căi metabolice poate determina oprirea sintezei enzimelor implicate în formarea aceluiași compus a fost denumit reacție de represie enzimatică.

Represia enzimatică nu trebuie confundată cu retroinhibiția enzimatică, cunoscută și sub numele de inhibiție *feed-back* enzimatică. La aceasta din urmă produsul final nu acționează asupra mecanismului de sinteză a enzimelor prin intermediul cărora ia naștere, ci interacționează direct cu una dintre enzimele căii metabolice omologe. Reacția de represie enzimatică apare simetric opusă reacției de inducție enzimatică. Foarte multe caracteristici ale acestor două fenomene sînt asemănătoare. Astfel, represia ca și inducția implică, în general, nu o singură enzimă, ci simultan o secvență de enzime active în etape succesive ale aceleiași căi metabolice. Ambele reacții au o specificitate mare. Astfel, represia enzimatică a unei căi metabolice poate fi declanșată numai de metabolitul final al aceleiași căi metabolice sau de substanțe foarte asemănătoare structural cu acesta.

În rezumat, inducția și represia enzimatică reprezintă două fenomene asemănătoare, cu efect opus, care controlează rata de sinteză a proteinelor-enzime. Studiul amănunțit al mecanismului lor de producere a dus la o serie de concluzii foarte importante pentru înțelegerea sistemelor de reglare metabolică.

Aceste concluzii au fost integrate de Jacob și Monod într-un model unic, care oglindește numeroasele elemente și interacțiuni ce contribuie la dirijarea unei căi metabolice oarecare.

S-a constatat că genele se pot împărți în două mari categorii, în funcție de rolul lor în fiziologia celulei: un grup, denumite gene structurale, poartă informația cu privire la felul în care se vor înșirui aminoacizii pentru a constitui lanțurile polipeptidice; alt grup, genele de reglaj, dirijează funcționalitatea genelor structurale.

Pentru fiecare lanț de reacții enzimatice în parte există cîte un asemenea complex genetic, care în esență este format din una sau mai multe gene structurale, fiecare dintre ele fiind responsabilă de sinteza unei proteine-enzime particulare, și

Scanned with OKEN Scanner

dintr-un operator, o regiune genetică amplasată alături de genele structurale.

Starea operatorului determină starea genelor structurale linkate de el în sensul că, atîta timp cît operatorul este funcțional, acestea din urmă sînt active, ele determinînd sinteza proteinelor-enzime, bineînțeles prin intermediul ARN-m, așa cum s-a arătat mai sus.

Mecanismul exact prin care operatorul determină funcționarea genelor structurale nu se cunoaște precis. După cei mai mulți autori, operatorul reprezintă regiunea în care se inițiază biosinteza replicativă a moleculei de ARN-m pe matricea ADN.

Astfel, mesajul genelor structurale nu ar putea fi înfăptuit decît pornind de la un punct fix ce reprezintă punctul de inițiere a acestui mesaj și care este situat la nivelul operatorului. Operatorul acționează numai în poziția cis. Acțiunea lui este pleiotropă, el coordonînd simultan funcția tuturor genelor structurale din subordinea lui. Deci inhibarea sau dezinhibarea operatorului antrenează consecutiv inhibarea și respectiv dezinhibarea tuturor genelor dependente de el.

Operatorul reprezintă locul de acțiune al represorului. Această interacțiune dintre represor și operator este foarte specifică, un anumit operator neputînd suporta decît acțiunea unui singur represor.

Cartografierile genetice au dovedit că operatorul este reprezentat printr-o distanță genetică pe teritoriul căreia se pot produce mutații care se disting prin fenotipuri diferite. Aceste constatări îndreptățesc afirmația că operatorul se comportă ca un locus genetic.

Grupul alcătuit dintr-un operator și genele structurale de sub dependența lui este numit *operon*. După Jacob, Perrin, Sanchez și Monod (1961), operonul este o unitate genetică cu expresie coordonată.

În consecință, enzimele unei secvențe guvernate de un același operator nu pot fi induse separat. Mutațiile operatorului vor avea ca efect pierderea capacității de sinteză a tuturor enzimelor din sistem. Experiențe recente au arătat prin diferite probe că operonul replică un singur lanț de ARN-m.

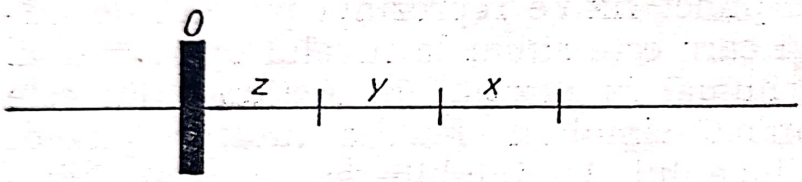
Scanned with OKEN Scanner

Această moleculă foarte lungă de ARN-m va cuprinde mesajele alăturate ale tuturor genelor structurale din operon.

S-a constatat, de asemenea, că după lectura acestui ARN-m poligenic sau, mai exact policistronic, la nivelul ergozomului se sintetizează o cantitate de enzimă invers proporțională cu distanța genei corespunzătoare de operator.

Teoria modulării explică această proporționalitate inversă printr-un mecanism care depinde de lectura ARN-m de către ribozomi (vezi sinteza proteinelor).

În cele mai multe cazuri, toate genele structurale care controlează secvența metabolică dată se găsesc situate în același operon. Așa este cazul biosintezei triptofanului la *E. coli* sau



28. Operonul lactoză (lac) de *E. coli*:
O — operatorul; *z* — gena care controlează sinteza β — galactozidazei; *Y* — gena care controlează sinteza permeazei; *X* — gena care controlează sinteza tiogalactozid-transacetilazei

a biosintezei histidinei la *Salmonella typhimurium*. În aceste situații, inducția sau represia enzimelor respective va avea efect asupra tuturor etapelor din secvență. Acest fenomen este cunoscut sub numele de *represie coordonată*.

În alte cazuri însă, diversele enzime care alcătuiesc o secvență metabolică unică sînt controlate de gene care se găsesc situate în operoni diferiți. În aceste cazuri, inducția sau represia enzimatică de la nivelul unui operon va determina sinteza sau blocarea sintezei numai pentru cîteva dintre enzimele secvenței metabolice respective. Acest fenomen poartă numele de *represie necoordonată*.

Operatorul, și deci întreg operonul, se găsește sub dependența unei alte gene de control, denumită *gena reglatoare*. Uneori gena reglatoare este situată foarte aproape de operonul a cărui activitate o controlează. Alteori însă poate fi situată la mari distanțe de operonul controlat de ea, mergînd pînă la a face parte dintr-un alt grup de linkaj. Gena reglatoare diri-

Scanned with OKEN Scanner

jează sinteza unui intermediar citoplasmatic denumit represor. Prin intermediul represorului, care difuzează în toată celula, acțiunea genei reglatoare se poate exercita atît în poziție cis, cît și în poziție trans. Uneori gena reglatoare care dirijează activitatea unui operon poate fi încadrată într-un alt operon, deosebit, fiind deci la rîndul ei controlată de altă genă reglatoare.

Substanța represoare, cunoscută și sub numele de represor sau frenator, este sintetizată sub controlul genei reglatoare. Rolul represorului este de a inactiva operatorul. De asemenea, represorul poate interacționa cu diverși compuși chimici, cu moleculă mică, ai metabolismului celular, dintre care unii îi intensifică acțiunea de represie a operatorului subordonat (efectori pozitivi de represie), în timp ce alții îi abolesc această însușire (efectori negativi de represie).

Acțiunea represorului este specifică numai asupra unui anumit operator. În sistemele de represie necoordonată, unde represorul poate fi activ pe mai mulți operoni, afinitatea acestuia nu este egală pentru toți operatorii, unii fiind reprimați mai puternic, în timp ce alții sînt reprimați mai slab. Cantitățile active de represor determinate de gena reglatoare sînt infime. Pînă în prezent nu s-a reușit încă să se izoleze nici un tip de represor în stare pură. Datorită acestui fapt, dovezile experimentale referitoare la compoziția lui chimică sînt obținute prin metode indirecte.

La început se considera că represorul ar putea fi alcătuit dintr-o moleculă de ARN-m. Ulterior însă, această concepție s-a dovedit a nu corespunde realității. Datele experimentale pledează copleșitor în favoarea faptului că represorul este de natură proteică (Monod, Changeux, Jacob, 1963).

Efectorii de represie sînt substanțe chimice cu moleculă mică. Prin interacțiunea lor cu represorul, ele pot modifica efectul de reprimare al acestuia asupra operatorilor subordonați.

Efectorii pozitivi de represie, denumiți și corepresori sau cofrenatori, intensifică acțiunea de represie exercitată de frenator. Produsul final al unei secvențe metabolice date sau al unui analog al acestuia joacă cel mai adesea rolul de cofrenator față de substanța represoare cu afinitate pentru operonul

Scanned with OKEN Scanner

omolog. Corepresorii sînt deci foarte specifici față de frenatorii asupra cărora acționează. De exemplu, triptofanul are acțiune de corepresor asupra sistemului represor al triptofan-sintetazei de *E. coli*.

Efectorii negativi de represie, denumiți și inductori, sînt substanțe chimice care abolesc acțiunea de represie exercitată de frenator. În general, inductorul este chiar substratul asupra căruia acționează enzima a cărei sinteză va fi indusă.

O dată descrise elementele constitutive ale sistemului ce controlează o anumită secvență metabolică, să vedem cum funcționează acest sistem. În starea lui nefuncțională, gena reglatoare este activă, controlînd sinteza frenatorului care reprimă operatorul și, o dată cu acesta, întregul operon. În momentul cînd o substanță chimică oarecare, cu rol de inductor față de sistemul luat în considerare, pătrunde în interiorul celulei, substanța represoare va fi blocată prin interacțiunea specifică cu inductorul. Ca urmare, represia exercitată de gena reglatoare va fi anulată și operatorul împreună cu genele structurale dependente de el vor trece în stare funcțională. La nivelul întregului operon începe sinteza replicativă a ARN-m pe matricea de ADN a genelor structurale, iar ARN-m nou sintetizat migrează apoi spre ribozomi, unde formează polizomi, determinînd la nivelul acestora sinteza proteinelor-enzime, care vor metaboliza substratul exogen inductor.

Oprirea sintezei proteinelor-enzime se poate face pe mai multe căi. Astfel, atunci cînd substratul exogen-inductor a fost epuizat, frenatorul, nemaifiind inactivat, va reprima din nou operatorul subordonat.

Alteori, metabolitul final al căii metabolice luate în considerare în calitate de efector pozitiv de represie (cofrenator) întărește efectul de represie a frenatorului, care în prealabil era inactivat de inductor, și astfel determină inactivarea operonului. În această situație avem de a face cu o reacție de represie enzimatică, adică metabolitul final determină oprirea sintezei enzimelor care îi dau naștere.

De multe ori același metabolit final poate interacționa direct cu prima enzimă din calea metabolică omologă, inactivînd-o și astfel blochează tot șirul de reacții. Este cazul reacției de retroinhibiție.

Scanned with OKEN Scanner

Ultimele două mecanisme de oprire a unei secvențe metabolice anumite cooperează foarte strîns, asigurînd precizia controlului asupra metabolismului intermediar.

Sisteme permeazice. S-a constatat că bacteriile induse antrenau în celula microbiană o cantitate de inductor mult mai mare decît bacteriile neinduse tratate în același mod. Bacteriile induse se caracterizează deci prin creșterea capacității lor specifice, înțelegîndu-se prin capacitatea specifică (notată cu y) cantitatea totală de substrat exogen încorporată, raportată la o cantitate fixă de celule (100 mg bacterii).

Fenomenul de creștere a capacității specifice, denumit și fenomen de permeație, se face datorită unor substanțe de natură proteică, care joacă rol de acceptori, cu specificitate sterică față de substratul exogen. Reacția dintre acceptorii proteici și substratul exogen este reversibilă și se comportă ca o reacție catalitică.

Acești acceptori proteici, care din multe puncte de vedere se comportă ca niște enzime, au căpătat denumirea de *permeaze.*

Permeazele reprezintă un sistem funcțional specializat, care nu intervine în metabolismul intracelular propriu-zis. Ele sînt asociate cu membrana celulară sau cu bariera osmotică ce separă celula de mediul extern și aici determină absorbția activă a substratului exogen.

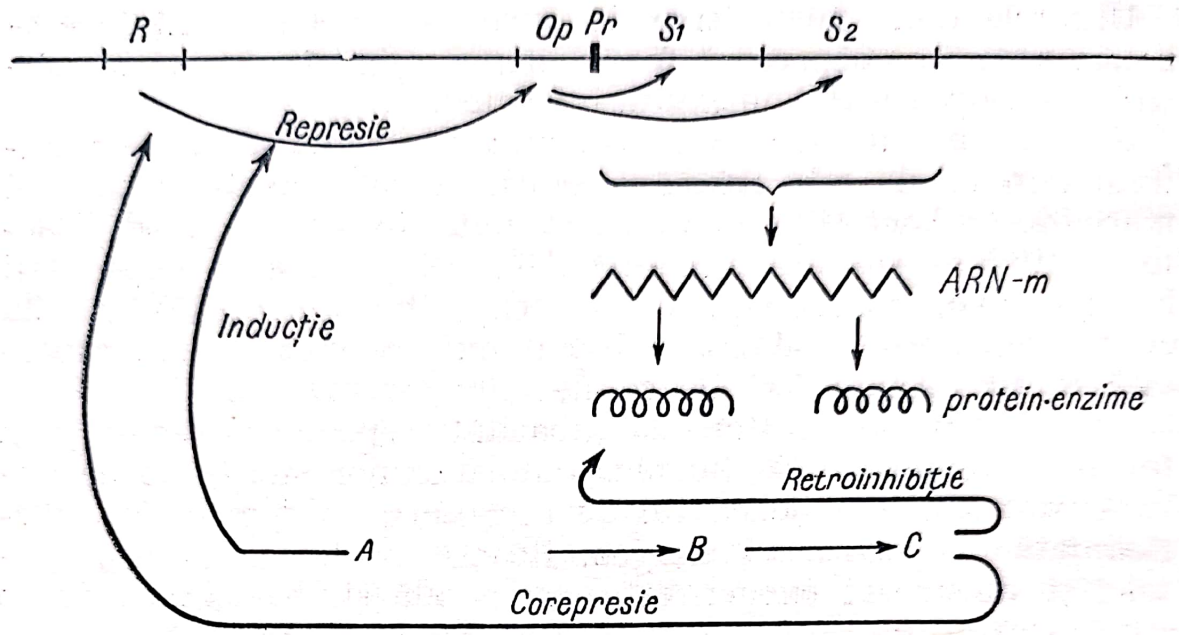
În ce privește mecanismele de declanșare și oprire a sintezei permeazelor, acestea sînt aceleași ca și pentru toate celelalte gene structurale din operon.

Pe lîngă galactozid-permeaza din *E. coli,* există și o serie de alte permeaze dovedite direct sau indirect la alte organisme și afectate unor diverse căi metabolice.

Danielli socotește că permeabilitatea selectivă a eritrocitelor omului față de anumite glucide se datorește unor permeaze.

Sisteme alosterice. Pentru a explica anumite particularități ale sistemelor de control a metabolismului celular, Monod, Changeux și Jacob (1963) au investigat în paralel interacțiunile care există între diverse proteine-enzime cu rol important în reglarea diverselor căi metabolice, substratele acestor proteine-enzime și o serie de alți compuși cu moleculă mică, ce pot activa sau inhiba acțiunea acestor enzime.

Scanned with OKEN Scanner



29. Modelul Jacob și Monod pentru reglarea proteinelor:
R — genă reglatoare; *Op* — operator; *Pr* — promotor; S_1 și S_2 — gene structurale; *A* — metabolit exogen inductor; *C* — metabolit final.

Din generalizarea cineticilor de reacție studiate se degajează o serie de proprietăți noi ale acestor biocatalizatori. Se consideră astfel că proteinele-enzime cuprind în molecula lor două zone stereospecific diferite. Una dintre aceste zone, denumită centrul activ, leagă în mod specific și reversibil substratul a cărui transformare o va cataliza. A doua zonă, denumită centru alosteric, va lega o serie de compuși cu moleculă mică, care se deosebesc de substrat, denumiți efectori alosterici. Legătura dintre centrul alosteric și efectorii alosterici este foarte specifică și reversibilă. Rolul efectorilor alosterici este de a activa sau, dimpotrivă, de a inhiba efectul biocatalitic al enzimei asupra substratului, modificînd deci cinetica reacției dintre aceste două componente. Efectorii alosterici acționează asupra proteinei-enzime, determinînd în molecula acesteia alterări discrete și reversibile, denumite tranziții alosterice, care la rîndul lor modifică proprietățile centrului activ, uneori prin scăderea, alteori prin creșterea afinității față de substrat. Între efectorii alosterici și substrat în general nu există afinități chimice. Mai mult decît atît, natura și structura efectorului

alosteric nu are nici o semnificație pentru interpretarea efectului pe care-l exercită asupra enzimei.

Astfel, de exemplu, *E. coli* sintetizează două aspartokinaze diferite ce catalizează aceeași reacție de transformare a L-aspartatului în L-aspartil-fosfat. Una dintre aspartokinaze este inhibată de treonină, în timp ce a doua este inhibată de către lizină, ambii aminoacizi comportîndu-se ca efectori alosterici.

În ce privește legătura dintre centrul activ și centrul alosteric, se consideră că aceștia sînt situați în zone diferite ale moleculei proteice, neavînd nici un punct de contact comun.

Studii și mai amănunțite au arătat că pe o singură moleculă de protein-enzimă pot exista mai multe centre active, după cum pot exista și mai multe centre alosterice activatoare sau inhibitoare. Între centrele omologe există o acțiune de cooperare. Cu alte cuvinte, centrele de același fel se potențează unul pe altul.

Existența mai multor centre active și a mai multor centre alosterice, inhibitoare sau activatoare, permite afirmația că molecula proteinei-enzime este alcătuită din mai multe subunități, ea fiind deci fie un homopolimer, fie un heteropolimer. Activitatea enzimei depinde de asocierea corectă dintre aceste subunități. Tranziția alosterică reprezintă în acest caz o modificare care se adresează fie aranjării diferitelor subunități între ele, fie legăturilor chimice care solidarizează aceste subunități. Această tranziție alosterică este indusă de legarea efectorilor activatori sau inhibitori la centrele alosterice specifice și se traduce prin modificarea afinității centrului activ față de substrat.

Pentru multe enzime acțiunea de cooperare dintre centrele active și acțiunea antagonistă dintre centrele active și centrele alosterice este abolită la un pH înalt. De asemenea, diverși reactivi care atacă grupările tiol sau imidazol blochează efectele alosterice. Aceasta dovedește că în tranziția alosterică, grupările tiol, imidazol și în general grupările acide din compoziția diverselor subunități au un rol deosebit de important.

Noile concepții asupra sistemelor alosterice completează implicit și cunoștințele noastre asupra structurii proteinelor-enzime. În rezumat, putem considera aceste macromolecule ca

Scanned with OKEN Scanner

avînd o structură cu flexibilitate foarte mare, capabilă de a se adapta anumitor variații de mediu.

Proteinele-enzime reprezintă polimeri alcătuiți prin solidarizarea mai multor subunități. În funcție de raporturile topografice și de legăturile chimice dintre aceste subunități, aceeași macromoleculă poate căpăta însușiri biochimice diferite.

Pe suprafața fiecărei molecule de enzimă există multiple centre la nivelul cărora se pot lega specific substanțe cu moleculă mică, reprezentînd activatori, inhibitori și substraturi.

Centrele de același fel sînt, din punct de vedere stereospecific, similare. Între acestea există o acțiune de cooperare. Centrele care se deosebesc unele de altele diferă din punct de vedere stereospecific, deci sînt alosterice. Între ele se pot stabili acțiuni de potențializare, ca, de pildă, între zonele alosterice activatoare și centrele active pentru legarea substraturilor, sau acțiuni antagoniste, ca, de pildă, între zonele alosterice inhibitoare și centrele active.

Monod Changeux și Jacob consideră că interacțiunea dintre represorul produs de gena reglatoare și efectorii de represie sînt de tip alosteric. Represorul ar fi deci o moleculă proteică care are mai multe centre stereospecific diferite.

Centrul activ al acestei proteine determină legarea ei specifică de locusul operator, avînd drept consecință reprimarea întregului operon. Pe de altă parte, un rol important îl au centrele alosterice, dintre care unele asigură legătura cu inductorul (efectorul negativ de represie), iar altele asigură legătura specifică cu corepresorul (efectorul pozitiv de represie). Atașarea corepresorului la molecula de represor determină o tranziție alosterică avînd drept rezultat creșterea afinității centrului activ pentru operator. Și invers, atașarea inductorului la represor, tot prin efect alosteric, determină abolirea afinității centrului activ față de operator.

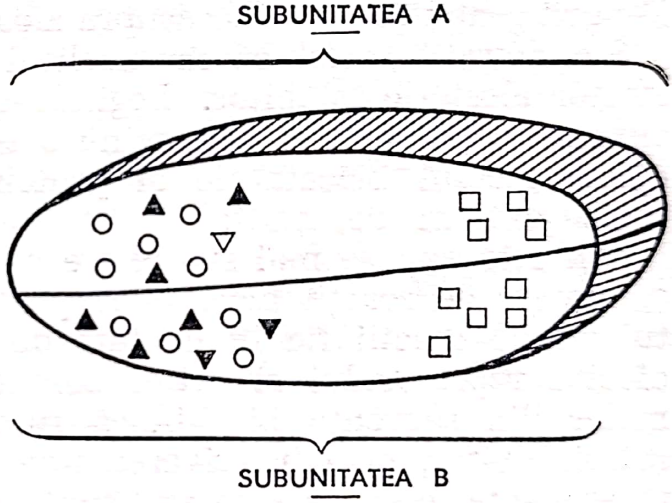
Importanța biologică a sistemelor alosterice este deosebit de mare. Ele permit stabilirea unor corelații între două substanțe chimice foarte deosebite, care nu au nici o influență directă una asupra celeilalte. Această corelație permite totuși primei substanțe ca, prin intermediul unei terțe molecule (pro-

Scanned with OKEN Scanner

teina-enzimă), să declanșeze sau să oprească transformarea celei de-a doua substanțe.

Efectorul alosteric are deci calitățile unui semnal chimic, pe care-l recepționează și-l îndeplinește proteina alosterică. Prin această modalitate se stabilesc, între diversele căi metabolice, circuite noi, deosebit de bogate, circuite care asigură o reglare extrem de fină a tuturor acestor căi, echilibrîndu-se între ele într-un ansamblu armonios, capabil să se adapteze unor variate condiții ale mediului extern.

Retroinhibiția, denumită și inhibiție prin *feed-back* sau inhibiție prin produs final, a fost descrisă pentru prima oară de Novik și Szilard în 1954.



30. Reprezentarea ipotetică a unei proteice alosterice cu structură cuaternară diversă.
□ — zonă cu afinitate pentru substrat
○ — zonă cu afinitate pentru efectorul alosteric pozitiv
▲ — zonă cu afinitate pentru efectorul alosteric negativ

S-a constatat că o secvență metabolică oarecare, ce duce la formarea unui compus final, poate fi inhibată chiar de către acest compus atunci cînd cantitatea sa depășește o anumită limită admisă. Inhibiția secvenței metabolice se produce prin inactivarea uneia dintre enzimele care intervin în această secvență. Astfel, de pildă, lanțul de reacții ce duce la sinteza triptofanului este blocat de un exces de triptofan la *E. coli*, prin abolirea acțiunii triptofan-sintetazei. Sinteza histidinei este reprimată de un exces de histidină, iar secvența reacțiilor care duc la formarea argininei este reprimată de un exces de arginină.

La organismele superioare s-au descris, de asemenea, inhibiții prin produs final. La eritrocite s-a constatat că acidul fosfogliceric poate bloca fosforilarea glucozei. Prin urmare, toți

metaboliţii esenţiali sînt capabili să inhibe propria lor cale de sinteză.

Fenomenul de retroinhibiţie are două caracteristici importante. Prima caracteristică este aceea că metabolitul final inhibă activitatea unei singure enzime din lanţul metabolic. În general, este o enzimă care catalizează prima reacţie din secvenţă, denumită enzimă reglatoare. Enzimele reglatoare acţionează după un punct de ramificaţie metabolică şi iniţiază o nouă cale de metabolizare.

Cea de-a doua caracteristică se referă la faptul că enzimele care urmează enzimei reglatoare nu mai sînt sensibile la inhibiţia prin produs final. Mecanismul retroinhibiţiei a fost lămurit graţie cercetărilor asupra alosteriei.

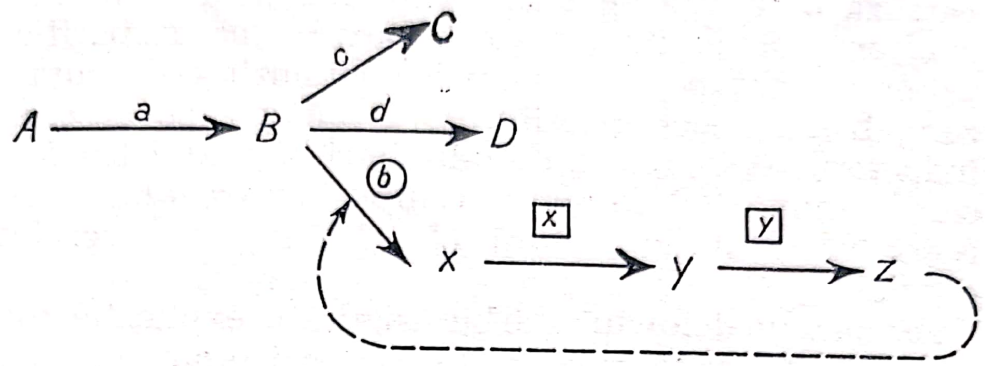
S-a dovedit astfel că metabolitul final se comportă ca un efector alosteric inhibitor. Legîndu-se la centrul alosteric al enzimei reglatoare, el determină o tranziţie alosterică în urma căreia efectul biocatalitic al protein-enzimei este abolit sau redus extrem de mult.

Din cele expuse mai sus reiese că un metabolit final produs de un şir de reacţii biochimice poate inhiba producerea acestui şir de reacţii fie în calitate de corepresor, cînd întăreşte efectul represorului şi astfel blochează sinteza tuturor enzimelor din secvenţa biochimică respectivă, fie în calitate de retroinhibitor, prin inactivarea unei singure enzime, implicată în secvenţă, ceea ce este suficient pentru blocarea întregii căi biochimice.

Cele două modalităţi de acţiune au mecanisme fundamental deosebite, deşi rezultatul lor este acelaşi. Ele conlucrează în procesul reglării metabolismului codular dovedind, încă o dată, cît de complexe sînt circuitele care asigură perfecţiunea acestor procese de reglare biochimică.

Modelul lui Barbu. Pentru explicarea mecanismelor de reglare a sintezei proteinelor, E. Barbu (1964) propune un model deosebit de modelul lui Jacob şi Monod. Acest autor socoteşte că iniţierea şi oprirea sintezei proteinelor-enzime se face la nivelul lecturii ARN-m, adică la nivelul ribozomului, în momentul cînd pe matricea de ARN-m sînt asamblaţi aminoacizii, pentru a alcătui lanţul polipeptidic. Procesul ar începe cu transcrierea, adică prin biosinteza replicativă a ARN-m pe ADN, la nive-

Scanned with OKEN Scanner



31. Retroinhibiția:

B — metabolit intermediar situat la un punct de răscruce între mai multe căi metabolice; *b* — enzimă reglatoare care inițiază calea metabolică *x y z* și care suferă inhibiția prin produs final; $\boxed{x}$ și $\boxed{y}$ — alte enzime din aceeași cale metabolică, ce nu suferă inhibiția prin produs final; *Z* — produs final retroinhibitor

lul unui punct fix de pe lanțul ADN, care poartă numele de promotor, progresînd apoi pînă va întîlni promotorul opus. Segmentele de ADN cuprinse între doi promotori alcătuiesc un singur operon. Promotorul este situat între gena operator și genele structurale controlate de acesta. O dată transcrierea începută, prima parte a moleculei de ARN-m nou sintetizată se desprinde de matricea ADN și ajunge în ribozom, unde inițiază sinteza proteinelor, înainte ca procesul de biosinteză replicativă a aceleiași molecule de ARN-m să fie încheiat, deci să fi ajuns la promotorul terminal.

Cu alte cuvinte, este posibil ca, simultan, un segment al moleculei de ARN-m să funcționeze ca matrice pentru lanțul polipeptidic care deja a început să fie sintetizat, în timp ce segmentul opus al aceleiași molecule este încă în curs de sintetizare (vezi schema 32). Se presupune că pe măsură ce lectura ARN-m progresează, va progresa și biosinteza replicativă a ARN-m din transcriere.

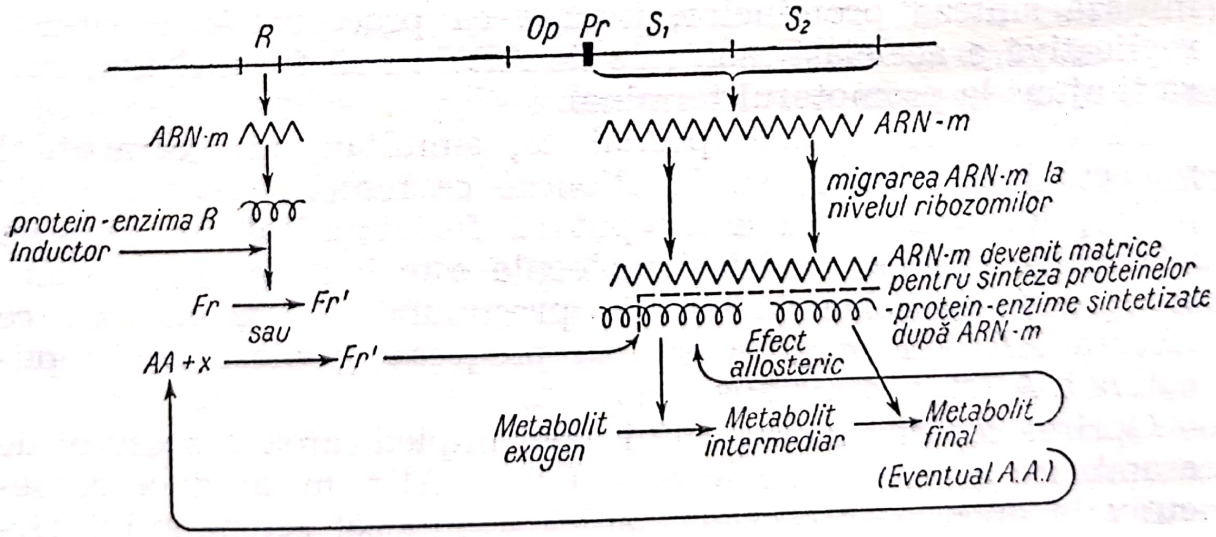
Oprirea lecturii mesagerului, deci împiedicarea procesului de asamblare a aminoacizilor pe matricea ARN-m, ar duce consecutiv la oprirea transcrierii, adică a sintezei segmentului terminal al moleculei de mesager.

În modelul lui Barbu, produsul genei reglatoare, deci analogul represorului, este o proteină-enzimă denumită *R*, care în acest caz nu interacționează cu ADN-ul. Rolul ei este de a

cataliza o reacție de transformare a unor compuși chimici în substanțe denumite frenatori, care se leagă specific la nivelul primului lanț peptidic al proteinei-enzime în curs de sintetizare, blocînd lectura ARN-m. După ipoteza descrisă mai sus, inductorii se comportă ca inhibitori ai enzimelor *R*. Pe această cale, ei împiedică formarea compușilor frenatori și astfel eliberează procesul de lectură al ARN-m, care continuă nestingherit.

Așadar, modelul lui Barbu asigură o explicație tuturor fenomenelor observate în controlul sintezei proteinelor-enzime, cum ar fi reacția de inducție enzimatică, represia enzimatică și altele. El se sprijină însă, pînă în prezent, pe prea puține date experimentale pentru a putea fi considerat ca definitiv stabilit. În favoarea modelului expus mai sus se pot cita experiențele lui Yanagisawa (1962 și 1963, citat de Ames și Martin), care sugerează că la nivelul ribozomilor lectura ARN-m a operonului lactoză poate fi înfăptuită numai în prezența inductorului.

Ipoteza „sechestrării nucleotidice". O serie de autori au semnalat încă mai de mult că teoria codului ADN nu poate explica toate bazele moleculare ale eredității.



32. Modelul ipotetic al lui Barbu pentru reglarea sintezei proteinelor.

Blocarea lecturii ARN-m sub acțiunea frenatorului; *R* — genă reglatoare; *Op* — operatori; *Pr* — promontor; S_1 și S_2 — gene structurale; *Fr* — frenator potențial *Fr'* — frenator activ (apărut prin acțiunea proteinei-enzime R); *AA* — aminoacid; *x* — substanță necunoscută care împreună cu *AA* dă un frenator activ

Bary Commoner (1964) consideră că, pe lîngă rolul său de matrice, ADN-ul poate determina specificitatea biochimică dinamică prin sechestrarea anumitor nucleotizi liberi în molecula sa. În felul acesta se produce o limitare specifică a cantității de nucleotide rămase în mediul intern celular, la dispoziția *pool*-ului metabolic.

Evident, dintre cei patru nucleotizi care intră în compoziția ADN-ului, sechestrarea ATP-ului este de cea mai mare însemnătate. Ipoteza „sechestrării nucleotidice" atribuie deci ADN-ului, pe lîngă rolul de matrice, și un rol nematricial în transmiterea caracterelor ereditare.

BIBLIOGRAFIE

Ames, B., R. Martin, „Ann. Rev. Biochem"., 33, 1964, 235.

Avery, O. R., C. M. Mc. Leod., M. Mc. Carty, „J. Expl. Med.", 79, 1944, 137.

Barbu, E., „C. R. Acad. Sci.", Paris, 259, 1964, 1454.

Bautz, E. K. F., C. Venderly, Colette Venderly, „C. R. Acad. Sci." 226, Paris, 1948, 1061.

Begg, C. M. M., *An introduction to Genetics,* Engl. Univ. Press, Londra 1959.

Benzer, S., „Proc. Vatt. Acad. Sci. U.S.A.", 45, 1959, 1607.

Idem, „Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.", 47, 1961, 403.

Bessman, M. J., *The replication of DNA in cell-free systems,* ed. J.H. Taylor, Academic Press, New York, Londra, 1963.

Bollum, F. J., „J. Cell and Comp. Physiol.", 62, suppl. 1, 2, 61, 1963,

Brachet, J., *The Biological Role of RNA,* Elsevier, 1959.

Brenner, S., S. Benzer, L. Barnett, „Nature", 182, 1959, 983—985.

Brenner, „Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.", 43, 1957, 687.

Bush, H., P. Bgovet, K. Smetana, „Cancer Res.", 23, 1963, 313.

Champe, S. P., S. Brenner, „Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.", 48, 1962, 532.

Chipchase, I. A. Margaret, Birstiel M. L., „Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.", 50, 1963, 1001.

Crick, F. H. C., I. Barnet, H. Brenner, W. Tobin, „Nature", 132, 1961, 1227.

Crick, F. H. C., „Science", 139, 1963, 461.

Scanned with OKEN Scanner

Delbrück, M., G. C. Sturt, în *The Chemical basis of Heredity*, Ed. W. D. de Elroy B. Glass, John Hopkins Press, Baltimore, p. 669.
Dirheimer, G., *Biologie médicale*, 52, 2, 1963, 125—168.
Idem, in Molecular Genetics, ed. J. H. Taylor, Academic Press, New York—Londra, 1963.
Gamow, G., H. Rich, M. Ycas, „Adv. Biol. Med. Phys.", 4, 1956, 23.
Gardner, R. S., A. J. Wohle, C. Basilia, R. S. Miller, P. Lengyel, J. F. Speyer, „Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.", 48, 1962, 2087.
Hershey, A. D., M. C. Chase, „J. Gen. Physiol.", 36, 1952, 39.
Hesin, R. B., *Biochimia citoplasmei*, Editura Medicală, București, 1963.
Jacob, Fr., J. Monod, „J. Mol. Biol.", 3, 1961, 318.
Leder, Ph., B. F. C. Clarck, W. S. Sly, S. Pestka, M. W. Nirenberg, „Proc. Natl. Acad. Sci. S.U.A.", 50, 1963, 1135.
Martin, R. G., J. H. Mathaei, O. W. Jones, M. W. Nirenberg, „Biochem. Biophys. Res. Com.", 6, 1962, 410.
Mathaei, J. H., Jones O. W., Martin R, G., Nirenberg M. W., „Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.", 48, 1962, 6661.
Mathaei, J. H., Nirenberg M. W., „Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.", 47, 1961, 1580.
Meselson, M., W. F. Stahl, „Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.", 44, 1958, 671.
Monod, J., J. P. Changeux, Fr. Jacob, „J. Mol. Biol", 6, 1963, 306.
Moraru, J., S. Antohi, *Introducere în genetica moleculară*, Editura Medicală, București, 1964.
Morgan, T. H., A. H. Sturzevant, H. J. Müller, C. B. Bridges, *The mechanism of Mendelian Heredity in man*, Ed. Holt, Rivehart, Winston Inc., New York, 1915.
Ochoa, S., B. A. Heppel, *in The Chemical basis of Heredity*, ed. Mr. Elroy W. D. și Glass B., John Hopkins Press, Baltimore, 1957, p. 615.
Recondo, A. M., „C. R. Acad. Sci. Paris", 259, 1964, 3092—3095.
Rho, J. H., J. Bonner, „Proceedings", 47, 1961, 1611.
Sager, R., Fr. J. Ryan, *Cell heredity*, John Willey and Sons, inc. New York—Londra, 1962.
Sirlin, J. L., C. J. Tandler, J. Jacob, „Expl. Cell. Res.", 31, 1964, 611.

Scanned with OKEN Scanner

Sköld, Ola, J. M. Buchanan, „Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.", 51, 4, 553.
Soru, Eugenia, *Biochimia medicală,* vol. I și II, Editura Medicală, București, 1963.
Staehelin, T., F. O. Wattstein, Hikokichi Oura, N. Noll, „Nature", 201, 1964, 264.
Taylor, J. H., *Molecular Genetics,* ed. J. H. Taylor, Academic Press, New York—Londra, 1963.
Wall, R., „Nature", 193, 1962, 4822.
Watson, J. D., F. H. C. Crick, „Nature", 171, 1963, 737.
Wettstein, F. D., T. Staehelin, H. Noll, „Nature", 197, 4866, 1963, 430.

Scanned with OKEN Scanner

4

Conceptul de genă și evoluția lui

Apărînd dintr-o intuiție genială la sfîrșitul secolului al XIX-lea, conceptul de genă, vag conturat la început, a căpătat treptat limite precise, devenind din ce în ce mai complex. În prezent, la mai puțin de un secol de la apariția acestui concept, ar fi necesare volume întregi pentru a epuiza toate aspectele legate de natura genelor și de importanța lor pentru științele biologice.

Axată pe conceptul de genă, știința transmiterii ereditare a caracterelor — genetica — s-a dezvoltat impetuos în ultimele trei-patru decenii. Făcînd uz de metodologia unui mare număr de științe mai mult sau mai puțin înrudite între ele, cum ar fi bacteoriologia, zoologia, botanica, patologia umană și animală, fitopatologia, biochimia, biofizica, matematica cu numeroasele ei ramuri și altele, genetica a înregistrat succese deosebite, acumulînd un număr imens de date care au complicat extrem de mult noțiunea de genă.

Iată de ce noianul de cercetări se impune a fi împărțit în etape care să ușureze studiul evoluției acestui concept, deși faptul că fiecare contribuție la structura și funcția genelor a fost pregătită de zeci și zeci de studii laborioase înșiruite în ani de zile desfide o împărțire rigidă în timp a acestor cercetări.

Am încercat totuși să remediem acest neajuns, urmărind descoperirile mai importante, care au marcat un pas înainte în evoluția conceptului de genă.

Volumul de față nu permite decît o descriere foarte sumară a lor, deși fiecare cercetare în parte a constituit tema unor ample publicații.

În cursul ultimilor ani ai secolului al XIX-lea, precum și în primul deceniu al secolului al XX-lea, diverse cercetări biologice au arătat că fiecare caracter ereditar al oricărui organism își găsește un corespondent într-o particulă discretă, care se

transmite o dată cu fecundația, atît de la tată, cît și de la mamă, în organismul rezultat din unirea lor.

Aceste particule discrete au fost numite determinanți. Se considera că sediul lor se găsește în nucleu și, mai precis, în cromatină. Această afirmație se baza pe observația că nucleul este singura parte asemănătoare între gametul mascul și cel femel.

Ulterior, termenul de determinant ereditar a devenit sinonim cu gena. Apare astfel concepția după care patrimoniul ereditar al unui organism se află localizat în nucleu și este alcătuit dintr-o mulțime de particule discrete, fiecare în parte fiind răspunzătoare de transmiterea ereditară a unui singur caracter.

La sfîrșitul secolului al XIX-lea, Gr. Mendel și Ch. Naudin descoperă legile care stau la baza transmiterii ereditare a caracterelor, legi cunoscute astăzi de cercurile cele mai largi de cercetători.

În aceeași perioadă iau avînt studiile de citologie, care pun bazele citogeneticii. Prin diverse tehnici de lucru se aduc dovezi neîndoielnice în favoarea faptului că determinanții, adică genele, sînt localizați în cromozomi. Deși această afirmație a fost privită inițial cu multă rezervă, datorită faptului că cromozomii nu deveneau vizibili decît în cursul mitozei, o serie de studii au dovedit perenitatea lor, adică persistența în interfază, și în același timp calitatea lor de purtători ai genelor.

Începuturile geneticii erau, așadar, constituite. Morgan, Sturtevant și școala lor aduc contribuții deosebit de importante la dezvoltarea acestei științe tinere, prin studiul topologiei și al topografiei genelor.

Numeroase lucrări pe *Drosophila melanogoster* au arătat că genele sînt înșiruite liniar pe cromozom. De asemenea, au fost elucidate procesele de recombinare genetică prin *crossing-over*. Morgan este primul biolog care folosește recombinarea pentru a stabili distanțele dintre două gene oarecare. El consideră că cu cît două gene sînt mai îndepărtate între ele, cu atît cromozomul se va putea rupe în mai multe puncte și deci procentul recombinărilor lor va fi mai mare.

Acest raționament, verificat ulterior de nenumărate ori, a dus la elaborarea unor tehnici care cercetează înlănțuirea gene-

lor de-a lungul cromozomului sau, cu alte cuvinte, la cartografierea genetică. S-a conturat astfel noţiunea de distanţă genetică, folosindu-se ca unitate pentru măsurarea ei procentul de recombinare (unitatea Morgan). Observarea faptului că distanţele genetice se comportă ca segmente de dreaptă ce se pot însuma sau scădea a dus la recunoaşterea proprietăţii lor de aditivitate, proprietate ce confirmă din nou aşezarea unidimensională a genelor pe cromozom.

Mecanismul prin care gena determină producerea caracterului pe care îl controlează era însă necunoscut. Patrimoniul genetic al organismelor era socotit ca avînd o autonomie totală în raport cu restul funcţiunilor celulare care îi sînt subordonate.

Singurele variaţii posibile ale materialului purtător al informaţiei ereditare se considerau a fi mutaţiile, adevărate salturi discontinue apărute sub influenţa unui anumit factor de mediu.

O nouă etapă în dezvoltarea geneticii este marcată de anul 1944, cînd Avery, Mc Leod şi Mc Carthy au dovedit că substratul material al purtătorilor de informaţie ereditară este acidul dezoxiribonucleic (vezi cap. 2). Această descoperire a legat noţiunea de genă de un concept biochimic, făcînd posibil studiul materialului informaţiei genetice prin metode chimice. Corelaţia dintre acest material şi metabolismul general al celulei a devenit astfel mult mai strînsă.

În felul acesta s-a putut afirma că materialul genetic este angrenat în schimburile biochimice care se produc în celulă, întocmai ca oricare alt constituent celular. Supremaţia genelor asupra restului vieţii celulare, acordată de cercetătorii de la începutul secolului al XX-lea, s-a dovedit a fi o concluzie eronată. Cromozomii şi genele au devenit, în concepţia geneticienilor, structuri ale celulei „specializate“ în funcţia de stocare şi de transmitere a informaţiilor genetice, aşa cum mitocondriile sînt „specializate“ în funcţiile energeticii celulare.

Dar atît genele, cît şi mitocondriile se integrează, în egală măsură, în această unitate deosebit de armonioasă, pe care o reprezintă celula vie. Fiziologia normală a celulei nu se poate concepe în condiţiile în care un organit ar funcţiona corect în dauna altuia. Biosinteza acizilor nucleici este indispensabil legată de sistemele macroergice şi, invers, aceste sisteme ar

Scanned with OKEN Scanner

funcționa haotic fără dispozitivul de programare și de control al reacțiilor biochimice, reprezentate de ADN.

Concluzia că genele sînt formate din molecule de ADN a deschis perspective noi în studiul agenților mutageni. Ideea că agenții mutageni acționează inducînd modificări de ordin biochimic s-a dovedit deosebit de rodnică pentru înțelegerea mecanismului intim al mutagenezei.

Totodată s-au deschis orizonturi noi pentru studierea modului în care informația genetică este codificată în interiorul genelor și a bazelor materiale prin care genele controlează exprimarea caracterelor ereditare în organismul nou format.

În 1945, Beadle dă o nouă interpretare mecanismului de acțiune a genelor. După acest autor, fiecare genă controlează o anumită enzimă care joacă rol în metabolismul intermediar al ființelor vii. Această ipoteză, cunoscută sub numele de ipoteza „o genă — o enzimă" marchează un important pas înainte în evoluția conceptului de genă.

Într-adevăr, pînă la apariția acestui nou punct de vedere, orice caracter morfologic sau fiziologic era luat ca marker în studiul unei gene oarecare. În realitate însă, nu exista o corespondență biunivocă între o genă și un caracter.

Să presupunem, de exemplu, că avem următoarea secvență biochimică:

$$A \xrightarrow{a} B \xrightarrow{b} C \xrightarrow{c} D.$$

Urmărind producerea metabolitului final *D*, luat ca o caracteristică a organismului respectiv, cercetătorul urmărea de fapt o succesiune de reacții biochimice catalizate de enzimele *a*, *b*, *c*, controlate deci de trei gene diferite. Și invers, o singură genă poate controla o enzimă cu rol în mai multe lanțuri metabolice, care devine astfel responsabilă de apariția unor caractere considerate ca formînd markeri diferiți.

Ipoteza o genă — o enzimă este deci importantă din mai multe considerente. Pe de o parte, ea stabilește o corelație strînsă între materialul purtător al informației ereditare și activitatea biochimică controlată de el. Corespondența o genă — o enzimă este mai apropiată de realitate decît corespondența o genă — un caracter. Pe de altă parte, ea dă un criteriu mai

Scanned with OKEN Scanner

exact pentru urmărirea activității fiecărei gene în parte în cursul studiilor de genetică.

Așadar, putem spune, pe drept cuvînt, că alături de descoperirea substratului biochimic al purtătorilor de informație ereditară, ipoteza o genă — o enzimă deschide capitolul deosebit de important al geneticii moleculare.

În ceea ce privește modalitatea prin care genele controlează producerea enzimelor respective, cunoștințele de pe atunci nu dădeau încă un răspuns precis. Unii autori considereau că gena însăși poate cataliza, prin prezența ei, reacția chimică pe care o controlează.

Gena continuă să fie considerată, în același timp, unitate de funcție, de mutație și de recombinare genetică. Ipoteza o genă — o enzimă a fost confirmată prin numeroase studii asupra bacteriilor. La aceste microorganisme s-a urmărit obținerea unui număr mare de mutanți, fiecare dintre aceștia avînd blocată o anumită etapă intermediară dintr-o secvență metabolică dată.

Cartografierea acestor mutații, precum și corelarea lor cu tipul de reacție biochimică blocată în urma mutației au arătat că fiecare etapă intermediară dintr-o anumită secvență metabolică este controlată de o genă deosebită, iar succesiunea pe harta genetică a diferitelor gene ce controlează diversele etape intermediare de biosinteză ale unui metabolit oarecare urmează, cel mai adesea, ordinea reacțiilor biochimice care duc la sinteza metabolitului respectiv.

Dăm ca exemplu studiul metabolismului intermediar al triptofanului și al histidinei la *Salmonella typhimurium*, corelat cu locusurile genetice care controlează aceste căi metabolice.

■

Studiile lui Benzer, începute în jurul anului 1955, aduc o contribuție însemnată la dezvoltarea geneticii prin demonstrarea faptului că gena nu este o unitate de funcție, de recombinare și de structură totodată, ci că orice genă poate fi subdivizată în mai multe unități de funcție, de recombinare și de mutație, acestea fiind diferite și independente una față de alta.

Scanned with OKEN Scanner

Descoperirea lui Benzer poate fi comparată, atît prin natura, cît și prin însemnătatea ei, cu descoperirea fizicienilor că atomul, considerat în trecut ca o unitate indivizibilă a tuturor substanțelor din natură, este, la rîndul lui, alcătuit dintr-o serie întreagă de alte particule elementare.

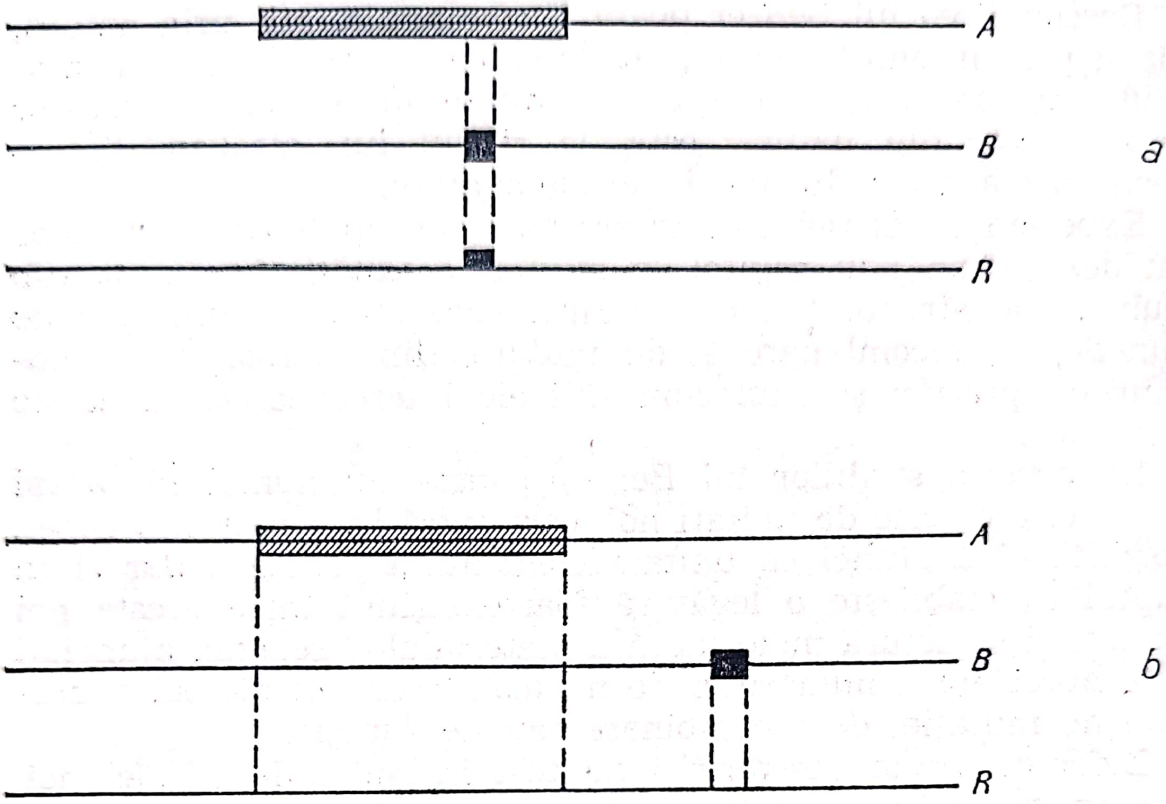
Experiențele deosebit de interesante concepute de acest autor au deschis un nou capitol în studiul eredității, cunoscut sub numele de structură genetică fină, care studiază unitățile de funcție, de recombinare și de mutație din componența genomurilor, precum și felul cum sînt ele interconectate în aceste genomuri.

Importanța studiilor lui Benzer constă nu numai în faptul că descrie o serie de unități noi, care intră în compoziția genei, socotită pînă atunci ca unitate elementară genetică, dar și în faptul că stabilește o legătură foarte strînsă între aceste noi unități și structura moleculară a materialului genetic, ajungînd la o apreciere a numărului de nucleotide ce pot alcătui o unitate de mutație, de recombinare sau de funcție.

Evident, aceste descoperiri au fost înlesnite de tehnici noi, concepute în bună parte de același autor și care au permis o observare mai amănunțită a diferitelor modificări survenite în transmiterea caracterelor ereditare. Importanța acestor tehnici îndreptățește descrierea lor chiar dacă aceasta este redată foarte succint. Ele au fost aplicate la sistemul fago-bacterian, alcătuit din fagul T_4 și din tulpina bacteriană de *E. coli*. Ca marker s-a urmărit capacitatea fagului T_4 de a liza anumite variante de *E. coli*, capacitate controlată de o anumită porțiune din genomul fagic, desemnată ca regiunea rII.

În principiu, a fost necesar să se obțină un număr cît mai mare de mutanți cu mutații situate în regiunea rII, pentru ca apoi, prin compararea acestor mutanți, să se stabilească unde s-au produs aceste mutații și ce efect au avut ele asupra funcției controlate de regiunea respectivă.

Cît privește situarea locului unei mutații în cadrul regiunii rII, s-a folosit metoda clasică a recombinării și a calculării distanțelor genetice în unități de recombinare, precum și o metodă mai rapidă, descrisă de Benzer, denumită metoda suprimărilor acoperite (*overlapping — deletions*). Metoda suprimărilor acoperite constă în compararea unui mutant necunoscut cu un



33. Metoda suprimărilor acoperite:

a — Mutantul *B* are mutația amplasată în regiunea ocupată de deleția mutantului etalon A. Recombinantul (R) va fi de tip mutant; *b* — Mutantul B are mutația amplasată în afara regiunii ocupată de deleția mutantului etalon A. Recombinatul (R) va fi de tip sălbatic

alt mutant luat ca termen de comparație și care are o porțiune întinsă a genomului alterată prin deleție.

În cazul bacteriofagului, tulpina bacteriană se infectează simultan cu cei doi mutanți, urmînd ca în interiorul bacteriei-gazdă să se producă recombinarea celor doi mutanți.

Dacă în urma recombinării apar descendenți de tip standard, care produc liza *E. coli K*, atunci deducem că mutantul necunoscut avea mutația situată în afara deleției mutantului luat ca etalon, dat fiind că în acest caz porțiunea intactă a unui genom a putut suplini, în cursul recombinării, regiunea alterată a celuilalt genom și invers.

Dacă însă recombinarea nu reușește să producă indivizi de tip standard, rezultă că mutația necunoscută este situată în teritoriul ocupat de deleția mutantului etalon, pentru că astfel

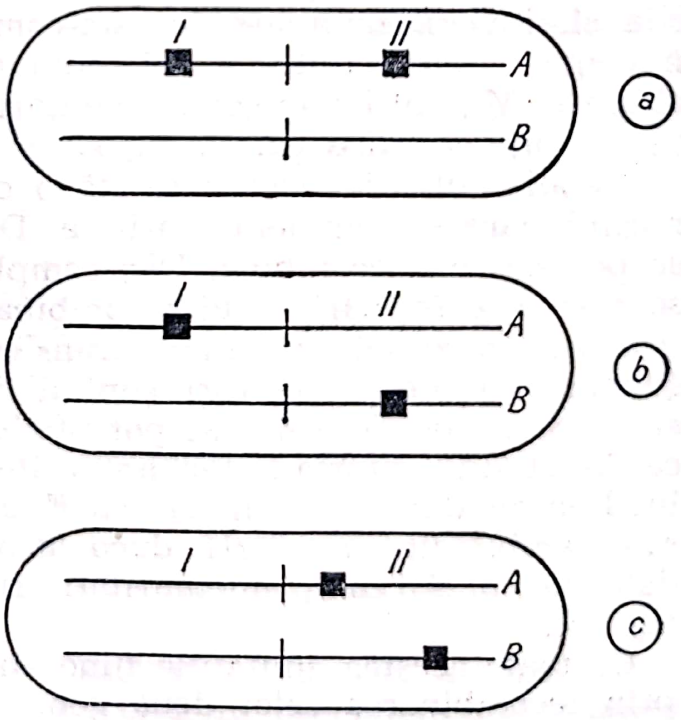
Scanned with OKEN Scanner

există o porțiune genetică comună, lezată la ambii mutanți, care nu poate fi suplinită în genomul recombinațiilor (vezi fig. 33).

Pentru studiul efectului diferitelor mutații asupra funcției controlate de regiunea genetică respectivă, Benzer a folosit testul cis-trans, descris încă din 1951 de Lewis (vezi fig. 34).

Testul cis-trans este format din două probe complementare. Prima probă constă în infectarea unei celule bacteriene cu două tipuri fagice mutante, defective în aceeași funcție (de liză a *E. coli K*), ale căror mutații sînt situate în poziția trans, adică fiecare genom are cîte o singură mutație. Ca rezultat, putem obține efecte deosebite. Uneori cele două genomuri mutante pot recăpăta, prin juxtapunerea lor, funcția inițial pierdută pentru fiecare mutant în parte. În cazul funcției controlate de regiunea rII a bacteriofagului T_4 se poate constata liza *E. coli K*. Alteori însă, inserarea celor două genomuri mutante în aceeași celulă-gazdă nu duce la restabilirea funcției pierdute.

În primul caz, deducem că cele două mutații, deși alterează aparent aceeași funcțiune, sînt situate în regiuni genetice dife-



34. *a* — Configurația cis; *b* — Configurația trans.

Testul va fi pozitiv pentru că mutațiile sînt situate în regiuni genetice care controlează funcții diferite; *c* — Configurația trans. Testul va fi negativ pentru că mutațiile sînt situate în regiuni genetice care controlează aceeași funcțiune. I — cistron I; II — cistron II

rite, care controlează în realitate funcţii diferite. Prin alăturarea celor două genomuri mutante, funcţia controlată de regiunea genetică intactă a unuia din genomuri „suplinește" funcţia controlată de regiunea genetică alterată a celuilalt genom, și invers, în așa fel încît, ca rezultat, cele două genomuri se comportă ca un organism intact. Rezultă deci că markerul ales de noi nu reprezintă o funcţie reală, ci doar un caracter aparent unitar, la exprimarea căruia contribuie două sau mai multe funcţii, delimitabile doar prin testul cis-trans.

În cazul în care juxtapunerea celor două genomuri mutante nu restabilește caracterul pierdut deducem că ambii mutanţi au alterată o aceeași zonă genetică, indiferent dacă în același loc sau în locuri diferite, care controlează o aceeași funcţie. Chiar dacă restul funcţiilor ce contribuie la exprimarea markerului ales sînt intacte, lipsa funcţiei controlate de regiunea genetică alterată duce la imposibilitatea exprimării caracterului ales ca marker.

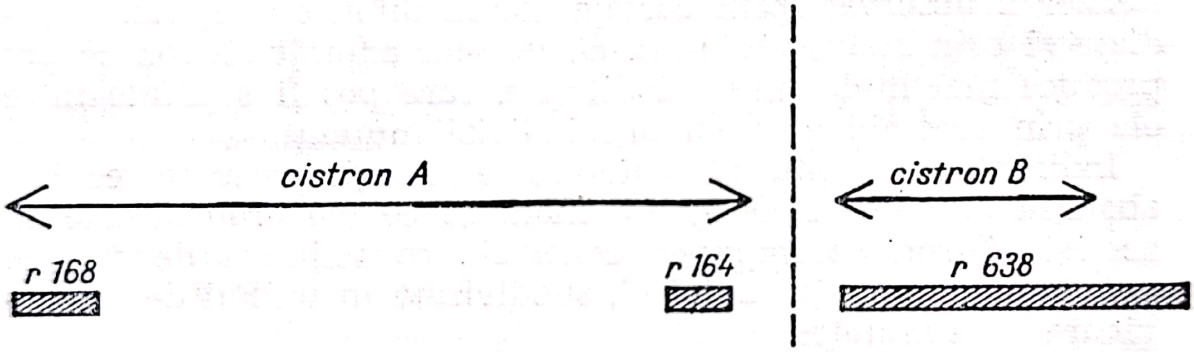
Apare astfel noţiunea de complementaritate funcţională, prin care se înţelege capacitatea a două genomuri mutante de a-și suplini reciproc funcţiile pierdute în cazul în care mutaţiile lor sînt situate în regiuni genetice care controlează funcţii diferite și, invers, noţiunea de non-complementaritate, prin care înţelegem incapacitatea a doi mutanţi de a-și suplini funcţiile alterate. Mutanţii non-complementari au deci mutaţiile situate în regiuni genetice care controlează aceeași funcţie.

Trebuie subliniat că nu există o condiţionare perfectă între recombinare și complementaritate. Doi mutanţi complementari se pot sau nu recombina. Dar complementarea funcţională nu se datorește formării unui recombinat de tip sălbatic. Ceea ce urmărim în cursul testului cis-trans este posibilitatea celor două genomuri mutante de a-și suplini reciproc funcţiile pierdute și nu ce fel de descendenţi pot produce prin recombinarea lor, ca în studiul suprimărilor acoperite. Citățm astfel observaţia lui Benzer, după care infectarea *E. coli K* cu mutanţii r164 și r638, ambii din grupa rII, duce la o liză masivă a bacteriilor datorită unei complementarităţi funcţionale perfecte (vezi fig. 35).

Cu toate acestea, mutaţiile fiind strîns apropiate una de alta, prin recombinarea celor două genomuri va rezulta un număr

foarte mic de recombinanți. Și invers, prin juxtapunerea mutanților r164 și r168 nu se obține complementarea funcțională, ambele genomuri avînd alterată o regiune genetică ce controlează o aceeași funcție. Mutațiile fiind însă mai îndepărtate între ele decît în cazul precedent, din recombinarea celor doi mutanți vor rezulta mult mai mulți recombinați de tip standard.

Din cele expuse mai sus rezultă că markerii studiați în genetica clasică reprezintă cel mai adesea caractere la exprimarea cărora sînt necesare mai multe funcții deosebite. Delimitarea acestor funcții, precum și cea a regiunilor genetice corespunzătoare care le controlează, se face în mod corect prin testul cis-trans.



35. Reprezentarea schematică a amplasării mutanților r 168, r 164 și r 638 în raport cu limita ce separă cistronul *A* de cistronul *B*, pe harta genetică a fagului T_4 (după Benzer)

Fiecare regiune genetică care controlează o singură funcție reprezintă un cistron. Limita de separare între doi cistroni adiacenți este dată de momentul în care testul cis-trans devine negativ sau, cu alte cuvinte, de momentul în care cele două genomuri mutante devin non-complementare.

Limita minimă a unui cistron, calculată în unități de recombinare, poate fi determinată prin numărul maxim de recombinări observate în încrucișările dintre perechile de mutanți din interiorul acestui cistron.

Investigînd regiunea rII a fagului T_4, Benzer a constatat că aceasta este alcătuită din doi cistroni desemnați sub numele

de cistron A și cistron B. Pe baza testelor de recombinare, acest autor a putut determina cistronul A ca avînd o dimensiune de 4% unităţi de recombinare, iar cistronul B, de 2% unităţi de recombinare.

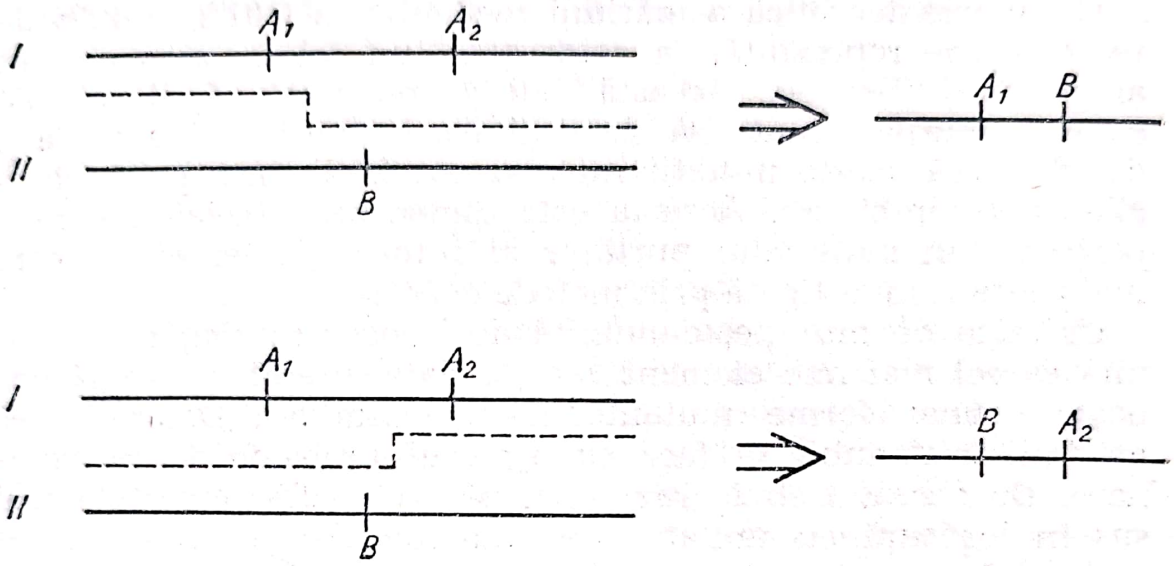
Din moment ce ipoteza o genă — o enzimă consideră gena ca responsabilă de controlul sintezei unei anumite enzime, se pune problema, în lumina noilor descoperiri, care este funcţia biochimică controlată de un cistron. În stadiul actual al cunoștinţelor nu putem încă răspunde cu certitudine la această întrebare. După Benzer, cistronul ar controla sinteza unuia dintre lanţurile polipeptidice care intră în componenţa unei anumite proteine-enzimă. Această afirmaţie, acceptată de marea majoritate a autorilor, presupune cooperarea mai multor cistroni pentru sinteza unei singure enzime. În cursul studiilor sale, Benzer a observat, prin cartografierea diferitelor mutaţii studiate și prin testul cis-trans, că într-un anumit cistron se pot produce mai multe mutaţii diferite, care pot fi separate între ele prin recombinarea cu alţi indivizi mutanţi.

Indiferent de faptul că toate aceste mutaţii aveau ca rezultat abolirea aceleiași funcţii, din moment ce ele erau situate în același cistron se impunea concluzia că unitatea de funcţie genetică poate fi, la rîndul ei, subdivizată în unităţi de recombinare și de mutaţie.

Unitatea de recombinare, denumită de Benzer *recon*, este definită de acest autor ca cel mai mic element din genom care mai poate fi separat prin recombinare genetică.

Ca exemplu, vom lua două genomuri, dintre care unul are două mutaţii A_1 și A_2, pe cînd cel de-al doilea genom doar o singură mutaţie B. Prin recombinarea acestor două genomuri se vor obţine descendenţi de tip mutant, dintre care unii vor avea mutaţiile A_1 și B, iar ceilalţi, mutaţiile A_2 și B. Spunem că mutaţiile A_1 și A_2 de pe primul genom au fost separabile prin recombinare sau, cu alte cuvinte, segmentul genetic A_1A_2 este divizibil prin recombinare. Distanţa minimă dintre două puncte de pe harta genetică, care mai poate fi separabilă prin recombinare, determină mărimea unui anumit recon (vezi fig. 36).

Prin tehnicile cunoscute pînă în prezent nu putem stabili decît o limită superioară reconului, limită care este mai mică



36. Prin recombinarea genomului *I*, avînd mutațiile A_1 și A_2, cu genomul II, avînd mutația *B*, se pot obține recombinanți care au fie mutațiile A_1 și *B*, fie mutațiile A_2 și *B*. În acest caz considerăm că mutațiile A_1 și A_2 sînt separabile prin recombinare genetică

decît cel mai mic interval diferit de zero observat între perechile de mutanți.

Așa, de pildă, în regiunea rII a bacteriofagului T_4, cea mai mică distanță diferită de zero, ce ar mai putea fi măsurată în unități de recombinare, are 0,02%.

Calculele făcute pentru aceeași regiune genetică indică distanța minimă ca fiind de 0,01 unități de recombinare. Experimental rezultă deci că limita superioară a reconului este de 0,02%, iar teoretic, de 0,01%.

Corelate cu lungimea lanțului de ADN, aceste distanțe reprezintă maximum două perechi de nucleotide. Dimensiunea maximă a reconului, stabilită teoretic la 0,01% unități de recombinare, reprezintă o cifră foarte importantă pentru genetică. Tendința tuturor studiilor care au investigat o anumită hartă genetică a fost întotdeauna de a perfecționa tehnicile cunoscute, pentru a putea detecta un număr cît mai mare de mutații, în acest fel avînd garanția unui studiu exhaustiv al genomului respectiv.

Scanned with OKEN Scanner

Calcularea teoretică a mărimii reconului la 0,01% unităţi de recombinare reprezintă, în acest sens, un fel de zero absolut al geneticii (Benzer). Această valoare ne arată că dincolo de ea este inutil a căuta să determinăm mutaţii mai apropiate, dat fiind că aceste mutaţii nu mai pot fi distinse prin tehnicile de recombinare. Aceasta este dimensiunea celei mai mici porţiuni din materialul purtător al informaţiei ereditare care mai poate fi investigată prin metode genetice.

Unitatea de mutaţie, denumită de Benzer *muton,* este definită ca cel mai mic element care, o dată alterat, poate să dea naştere unei forme mutante a organismului. Determinarea mărimii mutonului se face cu ajutorul probelor de recombinare. De aceea, trebuie remarcat, pe baza celor enunţate mai sus în legătură cu unitatea de recombinare, că mărimea cea mai mică a unui muton decelabil va fi întotdeauna mai mare decît limita superioară a reconului.

Orice muton cu dimensiunea mai mică decît dimensiunea unităţii de recombinare nu va putea fi determinat prin metode genetice.

Pentru a stabili limitele unităţii de mutaţie se aleg trei mutaţii pe harta genetică de studiat şi se scade suma distanţelor dintre mutaţiile periferice şi mutaţia centrală din distanţa ce desparte cele două mutaţii periferice.

Pentru determinarea mutonului II (fig. 37) se face următorul calcul:

$$AB - (AC + DB). \qquad (1)$$

Ca exemplu, citäm calculul lui Benzer pentru nouă mutaţii din regiunea rII a fagului T_4. Conform formulei (1) s-au calculat distanţele pentru cîte trei mutanţi adiacenţi: r240—r359—r391; r359—r391—r279; r391—r279—r271; r279—r271—r539; r271—r539—r385; r385—r155—r131; r155—r131—r596; r131—r596—r106.

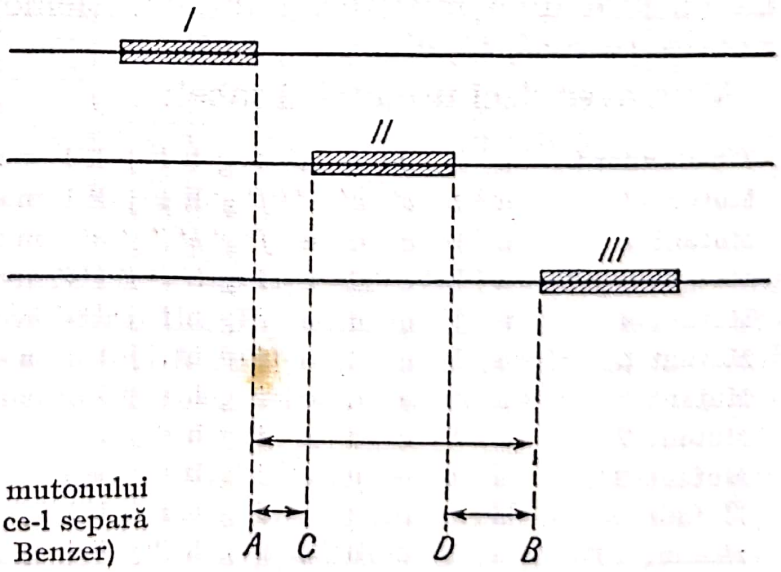
Distanţele pentru aceste grupe, considerate de la stînga la dreapta, sînt +0,14; —0,03; —0,02; —0,03; —0,02; —0,03; +0,03; +0,05 (în unităţi de recombinare). Media acestor valori este de 0,01%. Corectînd eroarea experimentală a cifrei obţinute cu un factor de ±0,05%, se obţine o valoare de 0,05%, pentru dimensiunea maximă a mutonului, observată prin experiment.

Corelînd această mărime cu lungimea lanţului de ADN, se poate trage concluzia că alterarea unui număr de maximum cinci nucleotide este capabilă să producă o mutaţie vizibilă.

Pentru determinarea mărimii mutonului, calculul trebuie făcut pe grupuri de cîte trei mutaţii foarte apropiate. În caz contrar, riscăm să „sărim" peste o altă mutaţie intercalată între mutaţiile pe care le luăm în consideraţie şi ca urmare distanţele calculate prin experiment vor fi false.

În sfîrşit, o a patra unitate ce face parte din structura genetică fină, în afară de cistron, recon şi muton, este unitatea de codificare genetică, denumită codon. Denumirea a fost introdusă în literatura de specialitate de către Crick (1963). Putem defini codonul ca grupul de nucleotide care specifică, în lanţul polipeptidic format sub controlul cistronului respectiv, un singur aminoacid. Datele experimentale coroborate cu studiile teoretice au arătat că fiecare codon este alcătuit din trei nucleotide alăturate (vezi cap. 3).

Lucrările lui Benzer au adus, de asemenea, o contribuţie deosebit de importantă la stabilirea topologiei structurii genetice fine. Admiţînd faptul că orice genă este subdivizată în diferite unităţi de funcţie, de mutaţie şi de recombinare, se punea problema cum sînt interconectate aceste unităţi. S-a afirmat iniţial, într-un mod cu totul ipotetic, că unităţile ce intră în alcătuirea genei sînt înşiruite liniar de-a lungul acesteia, în-



37. Stabilirea dimensiunii mutonului 2 luînd ca reper distanţele ce-l separă de mutaţiile 1 şi 3 (după Benzer)

tocmai ca și genele care, alăturate unele de altele, dau o structură unidimensională în cromozom. O argumentare a acestei afirmații era că legea aditivității distanțelor genetice se menține și la nivelul structurii genetice fine.

După cum remarca însă Műller, argumentul întîmpina mari dificultăți datorită faptului că la nivelul structurii fine genetice, deci la nivelul unor distanțe genetice foarte mici, efectul interferenței negative este mult mai puternic, făcînd ca determinarea distanțelor genetice, și în consecință aditivitatea lor, să devină foarte relativă.

O altă dificultate era aceea că problema dispoziției unităților de funcție, de recombinare și de mutație în interiorul genelor trebuie abordată mai degrabă sub aspect topologic, răspunzînd la întrebarea cum sînt interconectate aceste unități sau care sînt părțile unei unități ce vin în contact cu unitatea următoare. Deci datele de ordin „cantitativ" care precizează distanța dintre două unități oarecare nu pot constitui o soluție în rezolvarea acestei probleme.

Benzer a realizat o metodă de demonstrare a dispoziției liniare a structurilor genetice fine pornind de la anumite particularități de ordin topologic.

Să presupunem că avem o structură liniară standard formată din mai multe elemente discrete, notate prin *a, b, c . . . . .n*. Alterarea unui element sau a unui grup continuu de elemente dă naștere unei structuri mutante. Elementele alterate au fost notate prin *a′, b′, c′ . . . . . n′*.

Vom avea deci următorul tabel:

Tip standard	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	r	s	t	u	v
Mutant 1	a	b	*c′*	*d′*	*e′*	*f′*	*g′*	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	r	s	t	u	v
Mutant 2	a	b	c	d	e	*f′*	*g′*	*h′*	*i′*	*j′*	*k′*	*l′*	m	n	o	p	q	r	s	t	u	v
Mutant 3	a	b	c	d	e	f	g	h	*i′*	*j′*	*k′*	*l′*	m	n	o	p	q	r	s	t	u	v
Mutant 4	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	*k′*	*l′*	*m′*	n	o	p	q	r	s	t	u	v
Mutant 5	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	*n′*	*o′*	*p′*	q	r	s	t	u	v
Mutant 6	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	*q′*	*r′*	*s′*	*t′*	u	v
Mutant 7	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	*r′*	*s′*	*t′*	u	v
Mutant 8	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	r	*s′*	*t′*	*u′*	v
Mutant 9	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	r	s	*t′*	*u′*	*v′*
Mutant 10	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	r	s	t	u	*v′*

Scanned with OKEN Scanner

Să încercăm apoi să obținem indivizi-standard prin recombinarea perechilor formate din fiecare mutant cu toți ceilalți mutanți în parte. Producerea unui individ-standard se notează cu 1, iar imposibilitatea formării unui individ-standard se notează cu 0.

Vom insera rezultatele într-un tabel în care, la capetele de coloane și de linii, se notează mutanții studiați. La intersecția dintre o coloană și o linie anumită notăm rezultatul recombinării dintre mutanții indicați pe linia și respectiv coloana considerată. Din tabelul completat observăm că, pornind de la orice punct al diagonalei spre dreapta sau în jos, șirul de zerouri este neîntrerupt. Această proprietate este caracteristică numai pentru recombinarea unor structuri unidimensionale. Prin aceeași metodă se poate demonstra cu ușurință că rezultatele de mai sus sînt imposibil de realizat prin recombinarea unor structuri bidimensionale.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
2	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
3	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
4	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1
5	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
6	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1
7	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1
8	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1
9	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0

De asemenea, recombinarea unor structuri ramificate nu poate îndeplini această condiție. Pe diagonală vom găsi întotdeauna numai zerouri datorită faptului că recombinarea unui mutant cu un alt mutant identic nu va putea da niciodată un individ-standard.

Bazat pe acest criteriu de liniaritate, Benzer a studiat un număr de 145 de mutanți situați în regiunea rII a fagului T_4. După formarea tuturor perechilor posibile între acești mutanți,

el a încercat să obţină, prin recombinarea lor, indivizi-standard. Rezultatele au fost inserate într-o matrice de felul celei descrise mai sus şi, în final, s-a constatat că matricea îndeplinea condiţiile unor structuri unidimensionale. Pe această cale s-a dovedit că, întocmai după cum genele sînt interconectate în cromozom formînd o structură liniară, tot aşa şi în interiorul genelor, unităţile de funcţie, de recombinare sau de mutaţie se dispun de-a lungul unei singure dimensiuni.

Mecanismul exact al controlului pe care genele îl exercită asupra metabolismului celular, şi implicit asupra exprimării caracterelor ereditare, a fost complet elucidat de numeroasele lucrări care au stabilit reacţiile biochimice implicate în sinteza proteinelor (vezi capitolul *Sinteza proteinelor*). S-a constatat astfel că materialul purtător al informaţiei ereditare păstrează depozitată în structura moleculei sale toate datele necesare pentru sinteza unor enzime foarte specifice atît în ce priveşte tipul de reacţii chimice catalizate, cît şi în ceea ce priveşte celula din care au luat naştere.

Acidul dezoxiribonucleic foloseşte drept „îndreptar" sinteza proteinelor-enzime celulare, urmînd instrucţiunile date de el, şi nu intervine direct în cataliza reacţiilor chimice, aşa cum se considera la început.

Ca urmare a sintezei enzimelor specifice unui anumit organism, ADN-ul, deci genele, stabilesc un anumit tip de metabolism, care, transmiţîndu-se din generaţie în generaţie, asigură latura stabilă, conservatoare a fiinţelor vii.

Concepţia despre gene şi funcţiile lor a devenit însă şi mai complexă în urma lucrărilor întreprinse de Jacob, Monod, Cohn, Cohen şi alţi autori care au abordat problema reglării metabolismului celular pe plan genetic. Aceşti autori au arătat că, în afară de genele structurale, singurele concepute în citogenetica clasică de la începutul secolului al XX-lea, există gene afectate exclusiv reglării, cum sînt genele operator şi genele reglatoare.

Dovedirea existenţei genelor reglatoare a pus în evidenţă un aspect cu totul nou în concepţia despre genă. S-a demonstrat astfel că între aparatul specializat în transmiterea caracterelor ereditare şi mediul extern al celulei există relaţii foarte strînse. Genele reglatoare sînt „sensibile" la anumiţi meta-

Scanned with OKEN Scanner

boliți ai mediului extern, ele avînd rolul de a permite sinteza enzimelor necesare unei anumite căi metabolice numai în condițiile în care există un aport de materie primă ce poate fi prelucrată pe această cale.

Prin urmare, economia generală a celulei s-a dovedit a fi adaptabilă la diferite compoziții ale mediului extern.

În cadrul unui metabolism ale cărui particularități generale sînt impuse o dată cu transmiterea de la o generație la alta a unui material ereditar identic conformat, celula ca individ are într-o anumită măsură libertatea de a folosi o anumită cale metabolică sau alta, în funcție de condițiile mediului extern în care trăiește.

Lucrările lui Jacob și Monod au confirmat și argumentat presupunerea existentă încă de demult, dar insuficient demonstrată, că între genele unui genom există o interacțiune, anumite grupuri de gene fiind subordonate altor gene.

O altă dovadă a „ierarhizării" genomului celular o constituie lucrările lui Miyake, care a arătat că la *Salmonella typhimurium* există o genă mutatoare (*mutator gene*) ce controlează rata mutațiilor spontane a genomului din care face parte.

Cercetările din ultimele decenii au arătat că purtătorii informației ereditare nu sînt localizați exclusiv în nucleu. Unele fragmente ale genomului se găsesc în citoplasmă. Aceste fragmente, denumite *epizomi*, sînt constituite tot din molecule de ADN care controlează sinteza diferitelor proteine-enzime, întocmai ca și genele localizate pe cromozom.

Epizomii au o individualitate distinctă de porțiunea genomului din nucleu. Autoreplicarea lor se face independent de autoreplicarea ADN-ului nuclear, uneori la o rată mult mai rapidă decît a acestuia din urmă. Epizomii au fost studiați foarte amănunțit la bacterii. Astfel, au putut fi puse în evidență o serie întreagă de asemenea elemente, cum ar fi factorul de fertilitate (F), factorul de transfer al rezistenței la antibiotice (RTF), factorul colicinogenetic (Col) etc.

Raporturile dintre epizomi și restul genomului sînt foarte complexe. Pe epizomi pot fi localizate gene al căror rol este de a reprima acțiunea altor gene de pe cromozomi, sau invers. Alteori, dimpotrivă, acțiunea unei gene epizomice poate fi sinergică cu acțiunea altei gene cromozomiale. Din punct de

Scanned with OKEN Scanner

vedere genetic, descoperirea epizomilor a modificat complet ideea dualității de funcții nucleu-citoplasmă. Delimitarea genetică strictă a nucleului de citoplasmă s-a dovedit a nu corespunde realității. Din moment ce există purtători ai informației ereditare localizați în afara cromozomilor, nu se poate acorda nucleului în exclusivitate funcția de depozitar al aparatului genetic. Într-adevăr, rolul acestui aparat este precumpănitor în nucleul celular, dar experiențele dovedesc că există și formațiuni extranucleare afectate aceluiași scop. Similitudinea funcțiilor nucleare și citoplasmatice a fost și mai puternic subliniată de descoperirea unor sisteme proteino-sintetizatoare în interiorul nucleului (ribozomi, enzimele de pH 5), precum și ARN-t al aminoacizilor.

Prin urmare, nucleul și citoplasma nu mai pot fi privite ca două părți polar deosebite ale celulei. Funcțiile celulare sînt dispersate în tot cuprinsul celulei, chiar dacă unele sectoare sînt cu precădere afectate unei anumite activități.

În organismele vii, epizomii se pot afla în stadiu liber, adică extracromozomial, avînd un ritm propriu de autoreplicare, diferit de cel al ADN-ului din cromozomi sau într-un stadiu integrat. În acest din urmă stadiu, epizomii se atașează la cromozomi și în felul acesta își pierd individualitatea. Ei se autoreplică o dată cu întregul cromozom, iar în cazul diferitelor procese de transfer genetic, și mai ales în cursul conjugării, ei se transmit de la o celulă la alta o dată cu întregul cromozom. În funcție de diverse condiții de mediu, epizomii pot să treacă din stadiul liber în stadiul integrat sau invers.

O dată ajunși în stadiul liber, transmiterea lor de la o generație la alta nu mai respectă legile eredității mendeliene.

În sfîrșit, descoperirea proceselor de transfer al materialului genetic, deosebite de diviziunea celulară propriu-zisă, cum ar fi conjugarea, transformarea și transducția, descoperirea elementelor genetice extracromozomiale (epizomii) și studiul bacteriofagiei au deschis noi perspective geneticii contemporane. Aceste descoperiri au permis să se pună întrebarea dacă nu este posibil ca în anumite condiții, mai degrabă anormale, alături de informația genetică specifică unui anumit tip celular să apară o informație genetică aberantă, care să modifice caracteristicile celulei, creînd astfel un organism nou, deosebit

Scanned with OKEN Scanner

de cel din care a luat naștere și care poate transmite, la rîndul său, noile particularități ereditare. Cercetările care încearcă să rezolve această problemă sînt încă foarte sumare.

Se întrevede totuși posibilitatea ca prin diverse căi de transfer genetic, fragmente sau genomuri întregi, cum ar fi bucăți de cromozomi, epizomi sau virusuri, să pătrundă într-o celulă, unde interacționează cu genomul acesteia (Bonner). Din interacțiunea genomului celulei-gazdă cu fragmentul de genom-oaspete poate rezulta o gamă întreagă de particularități noi, transmisibile ereditar. Avem deci de a face cu o nouă informație genetică, care, suprapusă peste informația genetică deja existentă, dă naștere la un mesaj cu totul modificat.

Genomul nou venit se poate menține în stadiu liber, sau prin recombinare cu genomul original al celulei se integrează în cromozomii acesteia. În acest din urmă caz, noile caractere ereditare se vor transmite la descendenți după legile lui Mendel.

Faptele expuse mai sus sînt încă insuficient argumentate din punct de vedere experimental. Importanța problemei în sine este însă imensă și de aceea a suscitat un interes deosebit în rîndul cercetătorilor. Rezolvarea ei va putea lămuri o serie întreagă de maladii ereditare și va aduce prețioase contribuții la aprofundarea relațiilor dintre virus și organismul infectat.

În patogenia malignizărilor se atribuie un rol din ce în ce mai important modificării anumitor particularități ereditare ale țesutului cancerizat, datorită unor informații genetice aberante aduse fie de virusuri, fie de alte fragmente ale unui genom străin.

Scanned with OKEN Scanner

5

Ereditatea citoplasmatică

În stadiul actual al cunoștințelor biologice, prin termenul de ereditate citoplasmatică se desemnează proprietatea citoplasmei anumitor organisme de a stoca și a transmite descendenților informații referitoare la unele caractere transmisibile ereditar. În diversele studii de specialitate, ereditatea citoplasmatică mai este denumită și ereditate extracromozomială, ereditate extranucleară sau ereditate nonmendeliană. La organismele vii, Lederberg distinge un sistem epigenetic sau epinucleic analog cu ereditatea citoplasmatică, în antiteză cu sistemul genetic sau nucleic care a fost descris în capitolele precedente.

Deși în aparență sinonime, aceste expresii au în realitate sensuri diferite. Astfel, termenul de ereditate extracromozomială, cît și cel de ereditate extranucleară au mai degrabă un sens topografic, delimitînd îndeosebi regiunea celulară responsabilă de acest tip de ereditate.

Descoperirile recente au arătat însă că topografia tipului de ereditate este mai puțin importantă decît baza sa moleculară și mecanismul său de producere.

Termenul de ereditate nonmendeliană se referă la constatarea că în cadrul eredității citoplasmatice transmiterea caracterelor nu se supune legilor lui Mendel, fapt care a deosebit acest tip de ereditate de ereditatea mendeliană cromozomială.

Diverse studii au arătat însă că anumite sisteme genetice, cum ar fi epizomii, care se încadrează perfect în categoria eredității cromozomiale, în stadiul lor autonom se pot abate de la segregările mendeliene.

Trecînd peste argumentele de ordin topografic sau peste cele de ordin formal, ar fi ideal ca terminologia să dea indicații asupra bazelor moleculare ale celor două categorii de ereditate.

Dat fiind însă că mecanismul intim al eredității citoplasmatice este departe de a fi definitiv stabilit, în literatura de spe-

Scanned with OKEN Scanner

cialitate toate expresiile întîlnite mai sus continuă să fie folosite în egală măsură.

Exemple de ereditate citoplasmatică au fost observate la organisme vii foarte diferite. Au fost studiate în special cazurile de ereditate citoplasmatică la plante superioare, fungi și protozoare.

Pentru a putea afirma că transmiterea unui caracter de la o generație la alta are la bază o ereditate de tip citoplasmatic trebuie, în principiu, să demonstrăm cît mai precis că acest caracter nu se transmite conform eredității mendeliene.

Practica a consacrat însă un anumit număr de teste ce pot pune în evidență cazurile de ereditate citoplasmatică, pe care le vom descrie în paginile ce urmează.

Observarea diferențelor în încrucișările reciproce. Încrucișînd un mascul *A* cu o femelă *B* și apoi un mascul *B* cu o femelă *A* și comparînd descendenții celor două perechi vom observa că între descendenții primei perechi și descendenții celei de-a doua apar diferențe fenotipice. Dacă luăm în considerare faptul că genomul mascul contribuie în aceeași măsură cu genomul femel la formarea descendenților putem explica aceste diferențe apărute ca fiind datorate unei neechivalențe între potențialul genetic al citoplasmei materne și a celei paterne. Avem deci un caz de ereditate citoplasmatică.

În general, testul încrucișărilor reciproce se aplică la cazurile în care părinții contribuie cu cantități inegale de citoplasmă la formarea zigotului.

Pentru ca metoda încrucișărilor reciproce să aibă un maxim de valoare informativă este necesar, pe de o parte, ca diferențele observate între cele două grupe de descendenți să persiste de-a lungul unui număr mare de generații, iar pe de altă parte, ca aceste diferențe să apară în cursul unor încrucișări reverse (*backcrosses, croisements en retour*) repetate.

Această din urmă condiție este extrem de importantă pentru a înlătura eventualitatea unei neechivalențe între genomul matern și cel patern.

O probă similară încrucișărilor reciproce este proba cunoscută sub numele de *ereditate maternă*. Încrucișînd $A♂$ cu $B♀$, *A* și *B* avînd fenotipuri ce diferă prin unul sau mai multe caractere între ele, constatăm că există o serie de caractere materne

(ale lui B ♀) care se transmit la toți descendenții F_1. Continuînd încrucișările F_1 ♀ x A ♂, observăm că aceleași caractere materne se transmit la toți descendenții F_2, și așa mai departe. În cazul unei ereditățI cromozomiale legate de sex, transmiterea ereditară a caracterului ce diferențiază sexul femel s-ar face numai la o parte din descendenți, într-o proporție bine stabilită (vezi cap. *Ereditatea legată de sex*). În cazul de mai sus însă, acest caracter se transmite tuturor descendenților, fără să se respecte această proporție.

Segregările nonmendeliene. În cazul eredității citoplasmatice, caracterele transmise de la o generație la alta vor fi repartizate la întîmplare printre descendenți. Segregarea acestor caractere nu se va face deci în proporții mendeliene.

Difuziunea citoplasmatică, cunoscută și sub numele de infecție (*infection*) sau difuziune invazivă (*invasive spread*), constă în introducerea naturală sau artificială a unei citoplasme străine într-o celulă oarecare. Fenomenul poate avea loc în mod natural la fungi unde, ca urmare a contactului dintre miceliile a două specii deosebite, se produce invadarea citoplasmei donatoare în miceliul variantei receptoare (fig. 38). Ca urmare, descendenții celulei-receptoare vor suferi modificări fenotipice, care nu se pot explica decît prin capacitatea citoplasmei donatoare de a transmite anumite caractere ereditare pe care celula receptoare nu le avea. Evident, în asemenea experiențe trebuie îndepărtată posibilitatea pătrunderii măcar parțiale a unor fragmente nucleare venite de la donator sau chiar a unor substanțe de origine nucleară care, ajungînd pe cale citoplasmatică în celula receptoare, ar putea influența ereditatea acesteia.

Apariția caracterelor noi la descendenți ca urmare a difuziunii citoplasmatice este condiționată însă de interrelațiile dintre cele două citoplasme. Întocmai ca și la ereditatea mendeliană, între alelele citoplasmatice se pot stabili relații de dominanță și de recesivitate. În consecință, pentru ca descendenții celulei cu citoplasma mixtă să-și exprime noile caractere este necesar ca citoplasma donatoare să suprime efectul citoplasmei receptoare și nu invers.

Testul heterocarion constă în transferul unui nucleu dintr-o celulă oarecare în altă celulă, diferită din punct de vedere fenotipic de prima. Ca urmare, celula care a primit nucleul străin

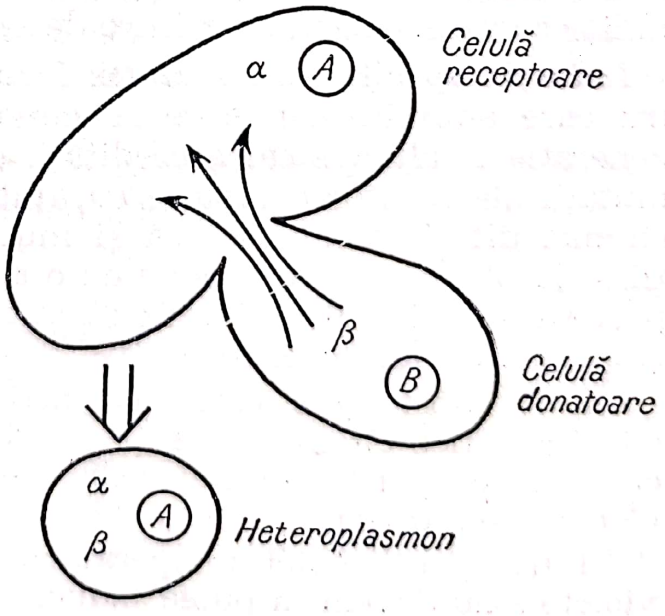
Scanned with OKEN Scanner

va deveni un heterocarion, adică va purta doi nuclei diferiți, care își vor menține, fiecare în parte, individualitatea lor; unul va fi nucleul transferat, iar celălalt va fi nucleul propriu al celulei.

A doua etapă a testului heterocarion comportă separarea celor două componente nucleare în cursul formării unor descendenți, care au din nou un singur nucleu.

Să presupunem că avem o celulă al cărei nucleu este *A* și a cărei citoplasmă este α. După transferul nucleului *B* se va forma un heterocarion *ABα* (vezi fig. 38). Desigur că heterocarionul *ABα* va avea un fenotip diferit de fenotipul celulei *Aα*, dat fiind că nucleul *B* aduce cu el o serie de noi caractere, controlate pe calea eredității nucleare.

În cursul formării descendenților pe cale asexuată vor apărea tipurile de progenituri *Aα* și *Bα*. Fenotipul *Aα* este binecunoscut, deci nu comportă nici o discuție. În schimb, fenotipul *Bα* poate prezenta două aspecte diferite. Uneori el se prezintă ca avînd absolut toate caracterele celulei din care a fost luat nucleul *B* și, prin urmare, tragem concluzia că toate caracterele pe care heterocarionul *ABα* le are în plus față de cele ale celulei *Aα* sînt controlate pe cale nucleară, dat fiind că informația lor genetică este în totalitate stocată în nucleul *B*.



38. Formarea heteroplasmonului prin fenomenul de defuziune citoplasmatică

Alteori însă, fenotipul $B\alpha$ prezintă anumite caractere controlate de nucleul B, dar și o serie de alte caractere care se găsesc în fenotipul celulei $A\alpha$. Dat fiind că se presupune că între nucleul A și nucleul B nu există nici un schimb genetic, această din urmă alternativă nu-și găsește explicația decît admițînd că o parte din caracterele celulei $A\alpha$ sînt controlate de citoplasma α și nu de nucleu. Ele sînt exprimate în fenotipul descendentului $B\alpha$, punînd astfel în evidență o ereditate de tip citoplasmatic. Pentru ca această concluzie să fie îndreptățită, este necesar ca fenotipul nou apărut, $B\alpha$, să fie stabil și să se mențină de-a lungul unui mare număr de generații.

Segregarea persistentă a homocarionilor este un test care se aplică în special la fungi. Pornind de la un singur spor haploid, uninucleat și deci homocariotic, se studiază coloniile obținute prin înmulțirea asexuată de-a lungul unui număr mare de generații. Ca urmare, se observă segregarea caracterelor sporului inițial printre descendenții săi, această segregare fiind foarte persistentă.

Ținînd seama de faptul că nucleul sporului care a dat naștere acestei clone este unic și haploid, nu se poate pune problema unei segregări a caracterelor controlate de nucleu. Rezultă deci că în citoplasmă există alele care determină diversele forme alelomorfe ale aceluiași caracter și care în cursul diviziunilor succesive segregă printre descendenți.

Inducția specifică de mutații. La unele specii de fungi, pentru care anumite caractere se cunosc a fi transmise de la o generație la alta pe calea eredității citoplasmatice, s-au obținut mutații ale acestor caractere cu ajutorul unor factori fizici sau chimici diferiți. Întocmai ca și mutațiile cromozomiale, mutațiile citoplasmatice se produc cu o anumită rată specifică în raport cu organismul mutant, cu caracterul care a suferit mutația și cu agentul mutagen respectiv.

Dintre substanțele cele mai active în inducerea mutațiilor citoplasmatice citățm coloranții acridinici, cum ar fi acriflavina, care induc apariția formelor „petite" la drojdii. De asemenea, clorura de tetrazoliu.

Dintre agenții fizici, temperaturile ridicate și radiațiile ultraviolete s-au dovedit a putea induce mutații citoplasmatice.

Scanned with OKEN Scanner

Modificări vizibile în structurile citoplasmei. Asocierea apariției unei modificări fenotipice transmisibile ereditar cu apariția unei modificări vizibile în structurile citoplasmei ar fi, din punct de vedere teoretic, dovada cea mai grăitoare a existenței unei eredități citoplasmatice. S-au făcut multe cercetări în acest sens, dar puține au dat rezultate care să reziste unei interpretări critice.

Plantele ale căror plastide au fost distruse în totalitate dau naștere unor descendenți fără plastide, dovedind că acest organit nu poate fi sintetizat de novo. Același lucru s-a observat la blefaroplaștii flagelatelor, la centrioli și chiar la mitocondrii.

Aceste experiențe, precum și altele bazate pe aceeași metodă duc la ideea că anumite organite celulare, situate în citoplasmă, ar avea o continuitate genetică intrinsecă.

Dar de aici pînă la demonstrarea cu precizie a asocierii dintre modificarea unui caracter ereditar și modificarea unei anumite structuri citoplasmatice există încă multe obstacole de învins.

În cele de mai sus am descris cîteva teste pentru a putea stabili dacă un anumit caracter se transmite de-a lungul generațiilor pe calea eredității citoplasmatice sau a celei nucleare. Despre validitatea acestor teste vom vorbi mai jos, cînd vom prezenta diferitele argumente aduse de cercetători în favoarea sau împotriva eredității citoplasmatice. Să ne oprim acum asupra mecanismelor prin intermediul cărora se transmit, de la părinți la descendenți, diversele caractere ereditare controlate de citoplasmă.

De la început semnalăm că volumul speculațiilor teoretice referitoare la această problemă depășește cu mult volumul redus al datelor experimentale.

Ipoteza plasmagenelor este prima ipoteză clasică care încearcă să explice ereditatea citoplasmatică. Ea transpune datele cunoscute în ce privește ereditatea nucleară la nivel citoplasmatic.

Se consideră deci că la acest nivel ar exista gene, denumite plasmagene, care acționează întocmai ca și genele cromozomiale. Aceste gene citoplasmatice se pot găsi în diferite forme alelomorfe, între ele stabilindu-se raporturi de dominanță și recesivitate.

Scanned with OKEN Scanner

Întocmai ca și genele cromozomiale, plasmagenele sînt capabile de autoreproducere. Ele pot suferi mutații care duc la modificarea fenotipului celulei respective.

Dat fiind că la formarea oului, în cursul reproducerii sexuate, gametul femel contribuie cu o cantitate de citoplasmă mult mai mare decît gametul mascul, citoplasma individului nou format va conține cu precădere plasmagenele materne. Astfel ar putea fi explicată ereditatea maternă. În sfîrșit, plasmagenele nu sînt repartizate uniform în tot cuprinsul citoplasmei și, prin urmare, în cursul diviziunii repartizarea lor între diferitele progenituri se face la întîmplare, ceea ce duce la o nerespectare a proporțiilor mendeliene.

Se consideră că pentru fiecare caracter alelomorf există mai multe plasmagene în citoplasma celulei, spre deosebire de ereditatea de tip nuclear, la care există o corespondență biunivocă între un caracter fenotipic și o genă cromozomială.

Această presupunere este necesară pentru a explica diverse fenomene observate în cursul transmiterii caracterelor ereditare citoplasmatice, cum ar fi segregarea persistentă a homocarionilor.

În ce privește localizarea plasmagenelor și asocierea lor la o structură citoplasmatică, există mai multe ipoteze. În funcție de diferiți autori, se consideră că plasmagenele ar putea fi localizate la nivelul ribozomilor, a mitocondriilor, a cloroplastelor etc.

Teoria plasmagenelor reprezintă o teorie comodă, care explică mai toate particularitățile eredității citoplasmatice. Subliniem însă că pînă în prezent nu există o verificare experimentală a ei și că cele mai multe studii ce tind să realizeze acest lucru sînt îndoielnice în ce privește interpretarea lor.

În anul 1948, Delbrück elaborează o nouă ipoteză destinată să lămurească mecanismele eredității citoplasmatice. Ipoteza sa a intrat în literatură sub numele de *ipoteza echilibrului de flux* și a căpătat o bază oarecare în urma lucrărilor lui Jacob și Monod asupra reacțiilor de inducție și represie enzimatică. Din nefericire, experiențele care confirmă realitatea echilibrului de flux se adresează tocmai aspectelor de ereditate cromozomială. Să presupunem că o celulă conține patru gene notate cu α_1, α_2, β_1 și β_2 (vezi fig. 39). Cele patru gene vor controla sinteza a patru enzime, respectiv A_1, A_2, B_1 și B_2. Enzimele A_1 și A_2

Întocmai ca și genele cromozomiale, plasmagenele sînt capabile de autoreproducere. Ele pot suferi mutații care duc la modificarea fenotipului celulei respective.

Dat fiind că la formarea oului, în cursul reproducerii sexuate, gametul femel contribuie cu o cantitate de citoplasmă mult mai mare decît gametul mascul, citoplasma individului nou format va conține cu precădere plasmagenele materne. Astfel ar putea fi explicată ereditatea maternă. În sfîrșit, plasmagenele nu sînt repartizate uniform în tot cuprinsul citoplasmei și, prin urmare, în cursul diviziunii repartizarea lor între diferitele progenituri se face la întîmplare, ceea ce duce la o nerespectare a proporțiilor mendeliene.

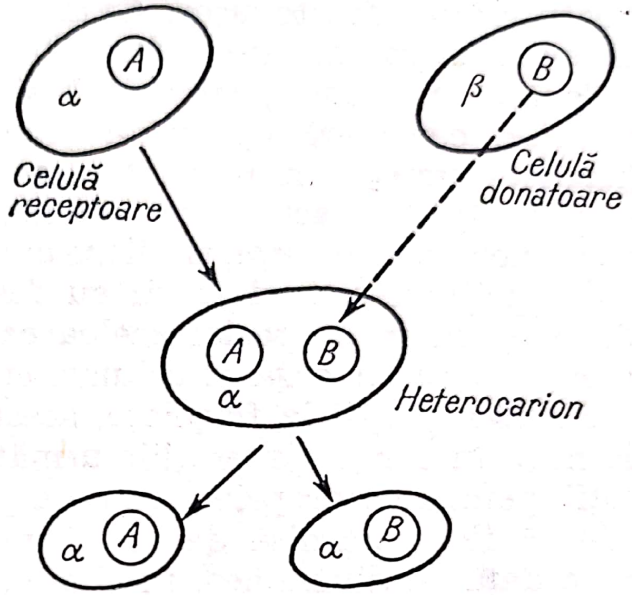
Se consideră că pentru fiecare caracter alelomorf există mai multe plasmagene în citoplasma celulei, spre deosebire de ereditatea de tip nuclear, la care există o corespondență biunivocă între un caracter fenotipic și o genă cromozomială.

Această presupunere este necesară pentru a explica diverse fenomene observate în cursul transmiterii caracterelor ereditare citoplasmatice, cum ar fi segregarea persistentă a homocarionilor.

În ce privește localizarea plasmagenelor și asocierea lor la o structură citoplasmatică, există mai multe ipoteze. În funcție de diferiți autori, se consideră că plasmagenele ar putea fi localizate la nivelul ribozomilor, a mitocondriilor, a cloroplastelor etc.

Teoria plasmagenelor reprezintă o teorie comodă, care explică mai toate particularitățile eredității citoplasmatice. Subliniem însă că pînă în prezent nu există o verificare experimentală a ei și că cele mai multe studii ce tind să realizeze acest lucru sînt îndoielnice în ce privește interpretarea lor.

În anul 1948, Delbrück elaborează o nouă ipoteză destinată să lămurească mecanismele eredității citoplasmatice. Ipoteza sa a intrat în literatură sub numele de *ipoteza echilibrului de flux* și a căpătat o bază oarecare în urma lucrărilor lui Jacob și Monod asupra reacțiilor de inducție și represie enzimatică. Din nefericire, experiențele care confirmă realitatea echilibrului de flux se adresează tocmai aspectelor de ereditate cromozomială. Să presupunem că o celulă conține patru gene notate cu α_1, α_2, β_1 și β_2 (vezi fig. 39). Cele patru gene vor controla sinteza a patru enzime, respectiv A_1, A_2, B_1 și B_2. Enzimele A_1 și A_2



39. Formarea heterocarionului și principiul testului heterocarion

sînt implicate în calea metabolică ce folosește substratul exogen a_1 pe care enzima A_1 îl transformă în metabolitul intermediar a_2, care, la rîndul său, va fi transformat prin acțiunea enzimei A_2 în metabolitul a_3. La fel enzimele B_1 și B_2 care catalizează transformarea substratului exogen b_1 în metaboliții intermediari b_2 și respectiv b_3.

O condiție restrictivă impune ca aceste două căi metabolice să nu poată funcționa simultan, datorită faptului că substanța a_2 inhibă specific acțiunea enzimei B_1 și, reciproc, substanța b_2 anulează acțiunea enzimei A_1. Să presupunem acum că atît metabolitul a_1, cît și cel b_1 pătrund în același moment în celulă. Între cele două direcții de metabolizare se va stabili o concurență din care va învinge numai una (calea a_1 — a_2 — a_3 sau calea b_1 — b_2 — b_3), în funcție de o anumită particularitate necunoscută și inițial accidentală. Ulterior, această particularitate va fi întreținută de formarea continuă a metabolitului (a_2 sau b_2) care permanentizează inhibiția căii opuse. Se creează astfel un echilibru de flux, adică, deși potențial celula este capabilă să folosească ambii metaboliți, în realitate ea nu prelucrează decît unul dintre ei.

Acest echilibru de flux se poate transmite ereditar o dată cu citoplasma, care aduce în celula-fiică o serie întreagă de metaboliți de tipul a_2 sau b_2.

Pînă în prezent nu s-a putut aduce vreo dovadă experimentală că acest mecanism stă la baza eredității citoplasmatice. Principalul corolar al acestei ipoteze este că diversele stări stabilite în celulă ca urmare a unui echilibru de flux sînt metastabile, cu alte cuvinte trecerea de la o stare la alta se

Scanned with OKEN Scanner

poate realiza foarte ușor. Caracterele controlate de ereditatea citoplasmatică sînt însă, dimpotrivă, foarte stabile.

Ipoteza amorselor, cunoscută și sub numele de *ipoteza germenilor*, consideră că există anumite structuri citoplasmatice (amorse) care, prin prezența lor, determină declanșarea unui anumit tip de reacții fizice și chimice, ce vor contribui la sinteza unor structuri noi, similare amorsei.

În sprijinul acestei teorii au fost invocate o serie de experiențe și în mod special acelea care dovedeau că, o dată distrus, un anumit organit celular, cum ar fi plastidele la plante, sau blefaroplaștii la flagelate, acesta nu mai putea fi sintetizat de novo în cursul generațiile următoare. Conform acestei observații, pentru ca proprietatea de a poseda blefaroplaști sau plastide să fie transmisă de la părinți la descedenți este necesar ca, o dată cu diviziunea, în citoplasma celulei-fiice să pătrundă măcar un singur organit, care să inducă sinteza unor organite similare cu el.

În sfîrșit, o serie de cercetători au comunicat faptul că în cursul diviziunii celulare anumite organite se divid și ele întocmai ca și nucleul, produsele acestor diviziuni fiind împărțite între cele două citoplasme ale celulelor-fiice. Dintre aceste organite capabile să sufere o diviziune citățm kinetozomii, mitocondriile și centriolii.

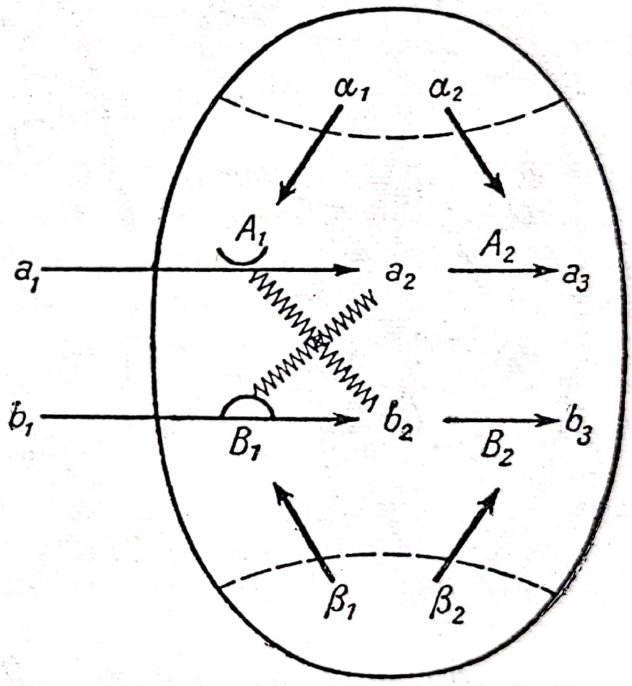
În concluzie, diferitele ipoteze propuse pentru a explica mecanismul eredității citoplasmatice se pot împărți în două mari categorii.

O primă categorie recunoaște la baza acestui tip de ereditate diverse structuri ce pot conține informația ereditară pe care o transmit descendenților, după ce în prealabil această informație a fost duplicată, întocmai ca și informația genetică din cromozomi. Dintre aceste structuri am citat plasmagenele, a căror localizare efectivă nu a fost însă lămurită și care în stadiul actual al cunoștințelor noastre nu reprezintă decît o entitate ipotetică, precum și alte formațiuni a căror individualitate morfologică este indiscutabilă, cum ar fi kinetozomii, centriolii sau mitocondriile.

În sfîrșit, un al doilea grup de teorii, cum ar fi ipoteza echilibrului de flux și ipoteza amorselor, introduc o concepție nouă, interesantă prin perspectivele ei în fiziologia celulară.

Scanned with OKEN Scanner

Deşi în aparenţă diferite, aceste două ipoteze au un fond comun. Se consideră în esenţă că deşi citoplasma nu are un rol efectiv ca purtător al informaţiei ereditare, totuşi în funcţie de diversele stări ale constituenţilor ei metabolici, ea poate funcţiona ca un „corector" sau, cu alte cuvinte, poate influenţa expresia anumitor gene cromozomiale. Echilibrul *pool*-ului metabolic al citoplasmei, o dată stabilit ca urmare a unui anumit accident în filogenia liniei celulare respective, se menţine în continuare, transmiţîndu-se la celulele-fiice în timpul diviziunii citoplasmei parentale.



40. Echilibrul de flux Delbrück (după L. Héritier, 1962)

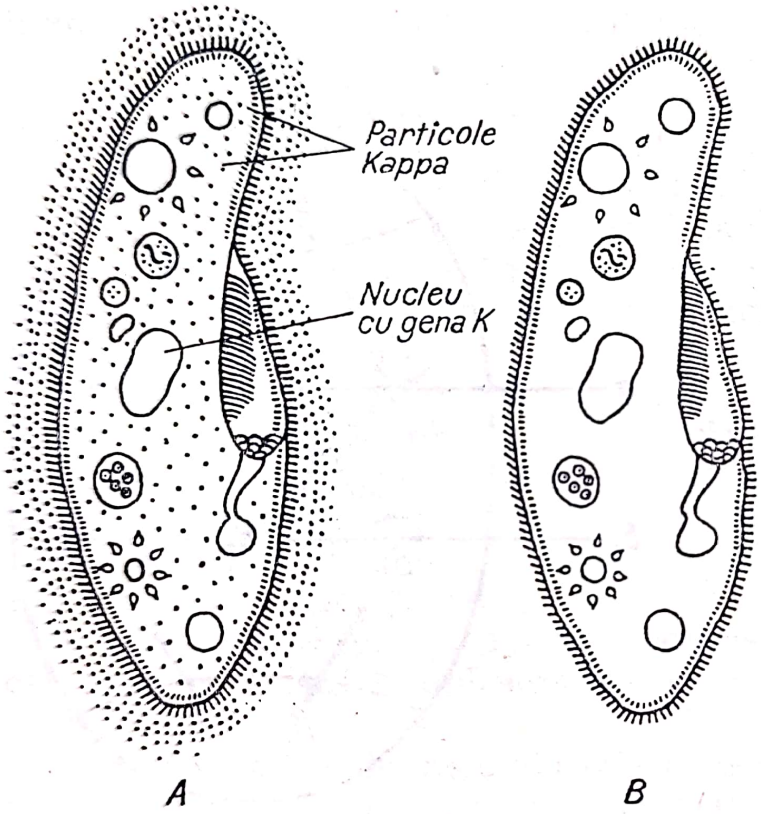
Admiţînd deci că anumite caractere se pot transmite de la o generaţie la alta prin intermediul unei eredităţi citoplasmatice, se pune problema cum sînt stocate informaţiile referitoare la aceste caractere în citoplasma celulei.

În 1963, D. Nanney acceptă următoarele trei modalităţi posibile de stocare şi transmitere a informaţiei genetice din citoplasmă:

1. *Stocarea în structuri autoreplicabile de tipul acizilor nucleici.* La *Paramecium aurelia* există în citoplasmă o serie de particule, denumite particule *kappa*, care controlează anumite

caractere ereditare. Or, s-a dovedit că aceste particule conţin ADN, fapt care ar îndreptăţi incriminarea acizilor nucleici ca purtători ai informaţiei ereditare citoplasmatice. S. Nass şi M. Nass au dovedit prin metode histochimice că în mitocondriile embrionului de găină există ADN.

În 1960, M. Steinert a arătat prin metode citochimice şi electrono-optice că în kinetoplaştii tripanosomei se găseşte ADN.



41. Particule Kappa la *Paramecium aurelia*

2. *Stocarea în structuri autoreplicabile, diferite de cele cunoscute pînă în prezent.* Informaţia genetică ar fi deci codificată prin intermediul unor structuri eterogene, diferite de acizii nucleici. Din punct de vedere biochimic, asemenea structuri nu sînt încă cunoscute.

Nanney atribuie însă asemenea proprietăţi unor structuri morfologice din constituţia celulei, cum ar fi sistemele membranoase din citoplasmă sau peretele celular. Diverse studii recente dovedesc însă că citoplasma poate sintetiza proteine-enzime chiar în lipsa unei matrice alcătuite din ARN-m.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel, în 1962 Reich a arătat că sinteza proteinelor poate continua în culturile de fibroblaşti de şobolan cu o rată aproximativ normală cîteva ore după ce sinteza ADN a fost inhibată prin actinomicină D.

Aceste date îndreptăţesc afirmaţia că citoplasma are un oarecare grad de autonomie, ea putînd sintetiza o serie de enzime importante chiar în lipsa informaţiei biochimice de origine nucleară purtate de ARN-m.

3. În sfîrşit, o a treia modalitate de stocare şi trasmitere a informaţiei ereditare citoplasmatice poate să nu fie indispensabil legată de o structură biochimică sau morfologică autoreplicabilă. În acest caz, prezenţa unei matrice nu mai este necesară. Informaţia genetică ar fi codificată printr-o anumită stare de echilibru a unui sistem dinamic.

Aceasta ar fi situaţia echilibrului de flux de tipul celui propus de Delbrück. Condiţionarea reciprocă a tuturor căilor metabolismului intermediar duce la crearea unui *steady-state,* sau, cu alte cuvinte, a unui stadiu biochimic stabil, menţinut printr-un echilibru optim al tuturor acestor reacţii. Un asemenea *steady-state* reprezintă o informaţie biochimică care, transmisă la descendenţi, poate impune metabolismului acestora să realizeze o configuraţie biochimică similară.

În cele ce urmează vom încerca să discutăm validitatea criteriilor pe baza cărora putem stabili că un caracter este controlat de ereditatea citoplasmatică, precum şi argumentele aduse în favoarea lor.

Încă de la început remarcăm că încadrarea unui fenomen genetic în categoria eredităţii citoplasmatice nu se bazează pe o probă pozitivă, ci mai degrabă pe o succesiune de probe care tind să elimine cazurile de ereditate nucleară.

Citărn în acest sens pe J. L. Jinks, care susţine că, în principiu, ereditatea citoplasmatică poate fi admisă numai în cazul în care ereditatea mendeliană a fost precis îndepărtată.

Aşadar, am putea socoti că există cazuri de ereditate mendeliană şi cazuri de ereditate nonmendeliană. Or, nu întotdeauna acestea din urmă s-au dovedit a fi cazuri de ereditate citoplasmatică, sau, mai exact, au fost etichetate ca atare pînă în

Scanned with OKEN Scanner

momentul cînd studiul lor mai aprofundat a arătat că ele reprezentau exemple ale unor cazuri particulare de ereditate cromozomială.

De pildă, descoperirea epizomilor a arătat că aceste structuri purtătoare de informaţie ereditară se încadrează în ereditatea cromozomială (există stadii în care epizomii sînt integraţi în cromozom), deşi aparent caracterele genetice legate de epizomi s-ar putea conforma diferitelor teste de ereditate citoplasmatică, cum ar fi segregările nonmendeliene, „infecţia citoplasmatică", segregarea persistentă a homocarionilor etc.

Interrelaţiile dintre bacteriofag şi gazda sa, deşi sînt de domeniul eredităţii cromozomiale, pot fi luate de asemenea drept exemple de ereditate citoplasmatică.

În alte cazuri, studii mai aprofundate asupra caracterelor considerate a fi controlate de ereditatea citoplasmatică au arătat că în realitate caracterele respective se găseau sub control nuclear, deşi aceste caractere se conformau probelor de ereditate citoplasmatică.

În ceea ce priveşte mecanismele echilibrelor de flux, lucrările lui Monod, Changeux şi Jacob (1963) au arătat că, într-adevăr, diverse căi ale metabolismului intermediar pot fi declanşate sau oprite prin intermediul anumitor interrelaţii variabile dintre diverşi metaboliţi, dar aceste interacţiuni se repercutează în ultimă instanţă tot asupra materialului genetic cromozomial. Efectul lor este de a modifica starea funcţională a acestui material genetic, însă nicidecum nu reprezintă un mecanism de acţiune autonom al citoplasmei.

Vedem deci că există o serie întreagă de modele de ereditate nucleară care răspund la anumite probe ce caracterizează ereditatea citoplasmatică. Cu toate acestea, pînă în prezent nu s-a studiat încă dacă vreunul din aceste modele se poate supune tuturor, sau măcar majorităţii, acestor probe enumerate mai sus.

Iată de ce, pînă cînd o asemenea cercetare nu va fi întreprinsă, nu putem infirma cu certitudine valoarea testelor de ereditate citoplasmatică.

Scanned with OKEN Scanner

În cele de mai sus am enumerat o serie de argumente pro și contra eredității citoplasmatice. Se pune deci problema dacă ereditatea citoplasmatică este sau nu o entitate reală.

În concluzie, vom arăta că s-au descris cazuri foarte multe și foarte variate, care ne fac să recunoaștem o transmitere ereditară a anumitor caractere pe cale extranucleară. Chiar dacă datele experimentale care tind să explice mecanismul intim al acestor tipuri de ereditate lipsesc în mare măsură, fenomenul ca atare nu poate fi contestat.

Lipsa unei cunoașteri complete nu trebuie să implice negarea puținului deja cunoscut. Este foarte probabil ca în cursul studiilor ulterioare, noi mecanisme ale eredității să se adauge la cele binecunoscute în prezent.

Datele ce ne stau la dispoziție permit însă următoarea afirmație cu caracter foarte general: orice organism viu posedă capacitatea de a-și transmite descendenților planul său de organizare structurală și funcțională. Acest plan de organizare este înscris în materialul său nuclear. O parte relativ redusă din această informație este conținută însă și în citoplasmă, care poate completa sau corecta anumite aspecte ale eredității cromozomiale.

În sfîrșit, din interacțiunea acestor două tipuri de realizare a caracterelor ereditare cu mediul înconjurător rezultă fenotipul propriu-zis al organismului respectiv.

BIBLIOGRAFIE

Greengard, O., M. A. Smith, G. Acs, „J. Biol. Chem.", 238, 1963, 1548.

Harris, H., L. D. Sabath, „Nature", 202, 1964, 1078.

Jacob, F., Monod J., „J. Mol. Biol.", 5, 1961, 318.

Jinks, J. I., *Methodology* în *Basic Genetics*, ed. W. J. Burdette, Ed. Holden-Day, Inc., San Francisco, 1963, pp. 325—348.

L'Héritier, Ph., „La Nature", 3326, 1962, p. 233.

Monod, J., J. P. Changeux și F. Jacob, „J. Mol. Biol." 6, 1963, 306.

Nass, S., M. K. Nass, „J. of the Royal Microscopical Society", nr. 81, 1963, 209.

Scanned with OKEN Scanner

6

Mutaţiile

După cum am văzut în capitolele anterioare, planul de organizare al oricărei structuri vii este înscris, „codificat", în genomul acelei structuri.

Textul codificat poartă numele de mesaj genetic. În timpul reproducerii, mesajul genetic este transmis ca atare descendenţilor. Această transmitere a mesajului genetic se realizează în modalităţi diferite, în funcţie de gradul de complexitate al organismelor în cauză şi de tipul de reproducere.

Astfel, *celulele independente,* în general haploide, cum sînt organismele monocelulare, şi *celulele somatice ale organismelor pluricelulare* (care sînt în general diploide) se reproduc asexuat, conform regulilor generale arătate la mecanismul mitozei. Din acest punct de vedere toate celulele sînt echipotente, deci fiecare dintre ele se reproduce după aceeaşi schemă cu celelalte.

Pentru ca reproducerea să aibă loc este suficientă o singură celulă parentală, oricare ar fi ea. Deoarece, fiecare celulă are doar un singur părinte mesajul genetic al acestuia se transmite „integral", el şi numai el, fiecărei celule-fiice care, de aceea, va fi identică cu celula din care a provenit.

Cu alte cuvinte, dublul helix al ADN-ului parental se replică semiconservativ, rezultînd două duble helixuri-fiice, identice atît între ele, cît şi cu cel parental. Consecutiv duplicării ADN-ului, adică a genomului, celula parentală, numită convenţional generaţia P, se separă în două celule-fiice (generaţia F_1), care primesc, fiecare, cîte un genom complet din cele două genomuri rezultate.

Fiecare din aceste două celule-fiice din generaţia F_1 se va reproduce, la rîndul ei, în modul arătat mai sus, dînd naştere la alte două celule „nepoate" (generaţia F_2). Din acestea vor rezulta, în acelaşi mod, generaţiile F_3, F_4, ... F_n.

De regulă, descendenţii rezultaţi prin reproducerea asexuată a unei celule vor fi în număr de: doi ($=2^1$), în generaţia F_1;

Scanned with OKEN Scanner

patru ($=2^2$), în generația F_2; opt ($=2^3$), în generația F_3 și x ($=2^n$), în generația F_n.

Așa cum s-a arătat mai înainte, mulțimea tuturor descendenților unei celule rezultați din reproducerea asexuată a acesteia alcătuiesc o clonă. Celula de origine a unei clone se numește celulă „*cap de clonă*".

În mod normal, toate celulele unei clone sînt identice între ele, cît și cu celula cap de clonă.

Așadar, în cazul reproducerii asexuate, cu condiția ca structura ADN-ului să nu se altereze, mesajul genetic se transmite întreg, cu o configurație constantă, la toți descendenții și pentru un număr nedefinit de generații.

Celulele germinative ale organismelor pluricelulare asigură reproducerea întregului organism din care fac parte, printr-un proces sexuat care necesită participarea a doi parteneri. Aceste celule suferă mai întîi o diviziune reducțională, meioza, prin care se asigură tranziția de la starea diploidă, inițială, la cea haploidă, intermediară.

Cele două celule haploide rezultate, numite gameți, posedă, fiecare în parte, jumătate din numărul de cromozomi ai celulei din care provin, și anume cîte un membru al fiecăreia din cele *N* perechi de cromozomi omologi ai celulei parentale diploide.

În mod obișnuit, cîte un gamet provenind de la două organisme diferite, care au polarități sexuale deosebite, se unesc în procesul de fecundație, alcătuind împreună o nouă celulă, numită ou sau zigot, care este din nou *diploidă*. Zigotul este celula inițială a organismului nou format.

În acest caz, genomul descendentului, și implicit textul codificat pe care-l conține este alcătuit din două jumătăți omologe, una provenind „ca atare" de la unul din părinți și cealaltă, de la cel de-al doilea părinte.

În concluzie, desfășurarea normală a procesului de reproducere are ca rezultat transmiterea mesajului genetic al genitorilor la descendenți, fără ca acest mesaj să sufere vreo alterare în cursul procesului de transmitere.

În cazul reproducerii asexuate, toate caracterele genetice ale unicului genitor sînt transmise „în bloc" descendentului respectiv, care va fi strict identic cu singurul său părinte.

Scanned with OKEN Scanner

În cazul reproducerii sexuate, cei doi genitori vor contribui fiecare la construirea genomului descendentului cu jumătate din mesajul lor genetic. Deși în acest din urmă caz descendentul nu va fi perfect identic cu nici unul dintre cei doi părinți, el nu va avea însă nici un caracter cu adevărat nou, ci numai o combinație nouă de caractere vechi care existau *toate* și la părinți. Cu alte cuvinte, caracterele genetice se recombină cu ocazia fiecărei generații, dînd naștere la configurații noi, care diferă de cele vechi numai prin modul în care se grupează la diferiții indivizi.

Așadar, *ambele modalități de reproducere* (asexuată și sexuată) *permit, atunci cînd se desfășoară normal, reeditarea, cu ocazia fiecărei generații, numai a configurațiilor genetice anterioare*, fie ca atare, fie recombinate, asigurînd astfel ereditatea ființelor vii.

Orice abatere de la desfășurarea normală a procesului de reproducere, fie în ceea ce privește replicarea corectă a materialului purtător de informație genetică, fie în ceea ce privește repartizarea lui corectă la descendenți, duce la alterarea calitativă a mesajului genetic transmis.

Această alterare are ca rezultat fie modificarea unuia sau a mai multor caractere genetice transmise, fie dispariția unuia sau a mai multora dintre ele, fie, în sfîrșit, apariția unuia sau a mai multor caractere noi.

Acest fenomen de *alterare accidentală a mesajului genetic transmis la descendenți, care are ca rezultat apariția bruscă în noua generație a unei configurații genetice, și eventual fenotipice, anormale, se numește mutație*. Indivizii normali poartă numele de indivizi-standard sau de indivizi tip sălbatic. Indivizii care prezintă un caracter nou comparativ cu cele transmise în mod normal de către părinți se numesc *mutanți*.

Tipologia mutațiilor

Criterii generale de clasificare. Deși mutațiile nu au putut fi clasificate pînă azi în mod riguros și după criterii universal valabile, datele pe care le avem la dispoziție ne permit imagi-

Scanned with OKEN Scanner

narea a două modalităţi principale în care un mesaj genetic se poate altera:

1. Printr-o modificare propriu-zisă a textului chimic, înscris în succesiunea dezoxiribonucleotidelor din ADN, în cadrul unui „context" cromozomic normal. Cu alte cuvinte, acest tip de modificări interesează numai compoziţia internă a genelor şi lasă configuraţia raporturilor intergenice (nivelul cromozomic) neschimbată. Aceste mutaţii se numesc „mutaţii intragenice" sau *mutaţii genice*.

2. Printr-o modificare a „contextului cromozomic" în care sînt încadrate texte chimice (secvenţe dezoxiribonucleotidice) *corecte*, adică fie prin amplasarea incorectă în cromozomi a unor fragmente de text corecte, fie prin „realizarea de texte chiar corecte într-un număr anormal de copii" (prea multe sau prea puţine). Cu alte cuvinte, acest tip de modificări schimbă configuraţia raporturilor intergenice, lăsînd însă compoziţia internă particulară a fiecărei gene nealterată. Ceea ce se modifică în acest caz este echilibrul dintre gene.

Din punctul de vedere al *dimensiunilor alterării*, mutaţiile se pot împărţi în:

1. *Mutaţii punctiforme* (*point mutations*), care interesează numai o singură pereche de nucleotide, indiferent dacă este vorba de o înlocuire, deleţie (suprimare) sau inserţie. Faptul că toate mutaţiile punctiforme se încadrează în clasa mutaţiilor genice este o remarcă banală în contextul de mai sus.

2. *Alterări întinse* (*large alterations*) în care modificarea interesează un număr mai mare de perechi nucleotidice. Toate mutaţiile cromozomice şi o bună parte din mutaţiile genice se încadrează în această categorie. În practică, alterările întinse se definesc prin incapacitatea mutanţilor care le poartă de a se recombina, *producînd din nou tipul standard*, cu cel puţin alţi doi mutanţi care sînt însă capabili să se recombine între ei (Freese, 1963).

Mutaţiile punctiforme se definesc „prin eliminare" ca acele mutaţii la care nu s-a putut pune în evidenţă, prin încrucişările menţionate mai sus, nici o alterare mai întinsă, şi care au tendinţa de a reveni la tipul sălbatic atît spontan, cît şi prin inducţie (Freese, 1963).

Scanned with OKEN Scanner

Punctul unde a avut loc mutația se definește cu ajutorul celorlalți mutanți utilizați la încrucișările de identificare, depinzînd de numărul și natura lor, și a celei mai mici distanțe de pe harta genetică pe care se mai pot detecta (experimental sau molecular) recombinații.

Mutațiile care se produc ca urmare a acțiunii (mai mult sau mai puțin specifice) unui factor fizic (radiații, temperatură) sau chimic (substanțe mutagene) capabil să interfereze desfășurarea normală a fenomenelor ce compun procesul de reproducere, alterînd astfel configurația mesajului genetic transmis, se numesc *mutații induse*, iar factorii care le-au determinat poartă denumirea de *agenți mutageni*.

Unele mutații apar *spontan*. Mulți autori pun la îndoială natura „cu adevărat spontană" a acestor mutații, presupunînd că ar fi cauzate de factori mutageni încă neidentificați.

O altă opinie este că mutațiile spontane se datoresc acumulării treptate de „zgomot" în informația genetică, fapt care duce, cu o anumită probabilitate, la alterarea sensului mesajului. Conform acestui ultim punct de vedere, chiar factorii mutageni nu fac altceva decît *să introducă o cantitate suplimentară de zgomot*, care, adiționîndu-se „zgomotului de fond", al cărui nivel constant asigură constanța ratei normale de mutații spontane, cresc probabilitatea producerii mutațiilor peste rata normală a celor spontane. Natura zgomotului introdus, și deci a modificării chimice rezultate, depinde, într-un grad destul de înalt de specificitate, de tipul agentului mutagen.

Descrierea mutațiilor „genice"*

I. **Mutații genice punctiforme.** Mutațiile punctiforme constau în modificarea unei perechi de dezoxiribonucleotide dintr-o genă. Modificarea poate fi de mai multe tipuri:

1. *Înlocuirea perechii originale cu o pereche anormală* sau, mai exact, schimbarea bazelor azotate eponime ale dezoxiribonucleotidelor respective. Înlocuirile se produc ca urmare a alterării ADN-ului în cursul replicării, cît și în stare de repaus.

a) *În cursul replicării ADN* o pereche de nucleotide poate fi înlocuită cu alta ca urmare a *inhibării sintezei normale în-*

* Mutațiile cromozomice vor fi tratate la capitolul *Citogenetica*.

celulă a unuia din precursorii ADN-ului, fie a căii pentru sinteza unei baze azotate particulare, fie chiar a unei căi ce asigură formarea dezoxiribonucleotidelor ca atare. În toate cazurile, replicarea ADN-ului se va face incorect, tipul de nucleotid care lipsește din *pool* fiind înlocuit într-un punct oarecare al unuia din lanțurile nou formate cu unul din celelalte trei tipuri prezente.

În general, într-o astfel de situație, baza eponimă a nucleotidului „înlocuitor" de pe lanțul în care a apărut în mod „anormal" face parte din aceeași familie cu cea a nucleotidului „înlocuit". Restricția spațială pentru complementaritate fiind mai puternică decît restricția referitoare la numărul de punți de hidrogen posibile, orice purină lipsă va fi înlocuită preferențial cu cealaltă purină „la dispoziție" și orice pirimidină lipsă va fi înlocuită preferențial cu cealaltă pirimidină „la dispoziție"*. La replicarea următoare, fiecare dintre cele două lanțuri acum împerecheate „incorect" la nivelul unei perechi nucleotidice își va reface lanțul complementar în mod corect, „greșeala" fiind copiată la unul din descendenți (Freese, 1963). Acesta va fi capul unei „subclone" conținînd mutația respectivă.

Se pare că majoritatea mutațiilor spontane au loc după un mecanism de acest tip (tranziție sau transversie prin „copiere greșită"), chiar dacă rareori putem incrimina în mod cert lipsa unui precursor al ADN-ului ca factor etiologic.

Înlocuirea perechii originale cu o pereche anormală se poate face și prin *încorporarea unor „analogi de baze"* în cursul replicării ADN-ului. Se știe că există compuși, majoritatea preparabili sintetic, a căror structură moleculară le permite să „simuleze" o parte din proprietățile bazelor azotate normale, pe care le înlocuiesc atît cu ocazia formării dezoxinucleotidelor, cît și cu ocazia încorporării acestora din urmă în ADN-ul sintetizat. Astfel, 5-bromouracilul (B.U.) și mai ales 5-bromodezoxiuridina (BUdR), 5-clorouracilul și 5-iodouracilul sînt toți ana-

---

* Menționăm cu această ocazie că tipul de înlocuire descris mai sus poartă numele de *tranziție*. Se cunosc următoarele tranziții posibile: dA→dG, dG→dA, dT→dC și dC→dT. Înlocuirea unei baze dintr-o familie, purinică sau pirimidinică, cu alta din cealaltă familie, respectiv pirimidină sau purină, se numește *transversie* (de exemplu: dA→ↄp dA→dT, dG→dC, dG→dT, și reciproc).

logi ai timinei, iar despre 2,6-diaminopurina (AP) nu se știe încă ce bază azotată substituie. Întrucît analogii citați inhibă mai puțin sinteza ADN-ului decît analogii celorlalte baze, ei se comportă ca factori mutageni mai eficienți.

Modul de acțiune al analogilor de baze poate fi exemplificat de comportarea BUdR. Aceasta, introdusă într-un mediu lipsit de timină, o înlocuiește în cursul replicării ulterioare a ADN-ului. Acidul dezoxiribonucleic nou format conține BUdR în loc de timină și se replică în continuare normal, pînă în momentul în care BUdR pierde un atom de hidrogen în poziția 1*. În acest caz, el are capacitatea de a stabili o punte de hidrogen suplimentară, datorită căreia se va împerechea de acum înainte cu G în loc de A. În consecință, cu ocazia replicării imediat următoare acestei schimbări, firul polidezoxinucleotidic ce conține molecula de BUdR va sintetiza în mod corect un fir complementar cu G, în loc de A, în poziția corespunzătoare.

Așadar, mutanții vor conține perechea „anormală" GC, în locul perechii „normale" AT, prezentă în tipul de origine. Acest fenomen poate fi interpretat ca o „greșeală de replicare propriu-zisă".

Dacă în momentul încorporării, BUdR se împerechează, „din greșeală", cu G în loc de A, încorporîndu-se în calitate de C în loc de T, ceea ce este posibil uneori chiar fără să fi trecut în formă enolică, ea se va comporta totuși corect (în calitate de T) în cursul replicărilor ulterioare, determinînd astfel apariția la mutanți a unei perechi AT anormală, în locul celei GC normale (tranziție). Acest ultim tip de mutație poate fi socotit de fapt „o greșeală de încorporare".

Un caz interesant îl constituie 2,6-diaminopurina (AP), care în forma sa tautomerică normală este capabilă să se împerecheze atît cu T (frecvent) stabilind două punți de H, cît și cu C (rar), implicînd stabilirea numai a unei singure punți de H. Cu alte cuvinte, AP se poate comporta atît în calitate de A (frecvent), cît și de G (rar) stabilind însă *numai una* din cele trei punți de H ale lui G. Dat fiind însă că structura sterică a AP diferă, într-o anumită măsură, de cea a bazelor azotate

* BUdR are tendința de a pierde acest atom de hidrogen, trecînd din forma keto (obișnuită) în forma enolică (rară).

pe care le „simulează“ (A sau G), specificitatea legăturilor pe care le va stabili în locul acestora va fi mult mai mică, deci și probabilitatea de „împerechere greșită“ ulterioară va crește față de cea a indivizilor ce conțin bazele normale. Frecvența greșelilor de tipul A—T→AP—G fiind mai mare decît a celor T—A → BUdR—G explică de ce AP este mult mai mutagen decît BUdR (Freese, 1963).

Menționăm că agenții alchilanți și radiațiile (ionizante sau ultraviolete) acționează atunci cînd sînt prezente în doză mai mică, după același mecanism, determinînd, de asemenea, greșeli de replicare.

b) Înlocuirea perechii originale se poate face și ca urmare a alterării ADN-ului în stare de repaus. Acest fenomen cu caracter „traumatic“ a putut fi reprodus experimental cu ajutorul acidului nitros și al hidroxilaminei.

Acidul nitros acționează prin *dezaminarea* bazelor azotate, în primul rînd a guaninei, apoi a citozinei și a adeninei, iar mutațiile rezultate sînt mai ales tranziții.

Hidroxilamina tinde să determine tranzițiile G→A și C→T.

Se pare că expunerile la un pH scăzut, care au ca rezultat „depurinarea“ nucleotidelor, ca și temperaturile de peste 60°, care, pe lîngă denaturarea ADN-ului, provoacă și un anumit grad de depurinare, acționează tot în acest mod.

Agenții alchilanți introduși în doză mai mare acționează tot prin depurinare.

Indiferent de modul în care a fost realizată înlocuirea unei anumite perechi de baze azotate dintr-o genă, rezultatul va fi același: modificarea unei litere din textul informațional al genei respective.

Litera schimbată corespunde bazei azotate eponime a acelui membru al perechii de dezoxinucleotide (modificată) care se află pe lanțul ADN transcris cu ocazia sintetizării ARN-m, destinat să funcționeze ulterior ca tipar pentru biosinteza proteinei corespunzătoare.

Această schimbare de o literă în textul unei gene implică modificarea compoziției cuvîntului de cod corespunzător (tripletul dezoxinucleotidic din care face parte) și are deci unul din următoarele trei efecte posibile asupra compoziției lanțului polipeptidic codificat:

Scanned with OKEN Scanner

A. Cuvîntul nou format în mod „greşit“ este sinonim cu cel original. Probabilitatea este destul de mare, dat fiind gradul înalt de „degenerescenţă“ a codului genetic. În acest caz, cuvîntul nou va codifica tot aminoacidul corect, iar mutaţia se numeşte „neexprimată“. Întregul lanţ polipeptidic va fi în continuare cel original.

B. Cuvîntul nou format va avea un sens diferit de al celui original, codificînd un alt aminoacid decît cel normal. Mutaţia se va numi „cu sens greşit“ (*Missense mutation*).

Astfel de mutaţii au fost descrise recent şi în patologia moleculară umană. Cele mai riguros studiate, şi deci mai elocvente, sînt cele referitoare la hemoglobinele patologice.

Se ştie că molecula de Hb—A (hemoglobina adultului normal) este alcătuită din patru lanţuri polipeptidice identice între ele două cîte două, numite α şi β. Cele două lanţuri α au lungimi de 141 de aminoacizi, iar cele două lanţuri β sînt formate din cîte 146 de aminoacizi.

Analiza detaliată a structurii hemoglobinelor patologice a arătat că fiecare din acestea diferă de hemoglobina normală prin cîte un aminoacid plasat incorect pe unul din lanţuri.

Au fost identificate pînă acum următoarele anomalii:

1. *Ale lanţului* α: $aa_{16\alpha}$ = Lys (Hb—A) → Glu (Hb—I)
   $aa_{30\alpha}$ = Glu (Hb—A) → Gln ($Hb-G_{Honolulu}$);
   $aa_{57\alpha}$ = Gly (Hb—A) → Asp ($Hb-_{Norfolk}$);
   $aa_{58\alpha}$ = His (Hb—A) → Tyr ($Hb-M_{Boston}$);
   $aa_{68\alpha}$ = Asn (Hb—A) → Lys ($Hb-G_{Filadelfia}$);
   $aa_{116\alpha}$ = Glu (Hb—A) → Lys ($Hb-O_{Indonezia}$).

2. *Ale lanţului* β:

$$aa_{6\beta} = \text{Glu (Hb—A)} \begin{cases} \nearrow \text{Val (Hb—S)} \\ \searrow \text{Lys (Hb—C)} \end{cases};$$

$$aa_{7\beta} = \text{Glu (Hb—A)} \begin{cases} \nearrow \text{Gly } (Hb-G_{San\ José}); \\ \searrow \text{Lys} = (Hb-C_{Georgetown}). \end{cases}$$

$aa_{26\beta}$ = Glu (Hb—A) → Lys (Hb—E);

$$aa_{63\beta} = \text{His (Hb—A)} \begin{cases} \nearrow \text{Tyr (Hb—M}_{\text{Saskatoon}}\text{)} \\ \searrow \text{Arg (Hb—}_{\text{Zürich}}\text{)} \end{cases};$$

$$aa_{67\beta} = \text{Val (Hb—A)} \rightarrow \text{Glu (Hb—M}_{\text{Milwaukee-1}}\text{)};$$

$$aa_{121\beta} = \text{Glu (Hb—A)} \begin{cases} \nearrow \text{Gln (Hb—D}_{\text{Pundjab}}\text{)} \\ \searrow \text{Lys (Hb—O}_{\text{Arabia}}\text{)} \end{cases}.$$

Pe de altă parte, studiul transmisibilității ereditare a acestor hemoglobine anormale a demonstrat, fără echivoc, că defectele de sinteză ale hemoglobinei sînt consecințe directe ale unor defecte genetice care se transmit mendelian printre urmași. Coroborarea acestor date cu cele referitoare la structura codului genetic au permis reconstituirea modificărilor survenite în structura codonilor care determină amplasarea în lanțul polipeptidic a acestor aminoacizi „greșiți". Implicit, putem reconstitui mutațiile punctiforme care au survenit astfel:

$$\text{dCdTdT} \rightarrow \text{GAA} \rightarrow \text{Glu } (aa_{6\beta} \text{ normal în HbA})$$

$$\text{T}\rightarrow\text{A} \Big\downarrow \text{ mutație } \textit{Missense} \text{ (transversie)}$$

$$\text{dCdAdT} \rightarrow \text{GUA} \rightarrow \text{Val } (aa_{6\beta} \text{ în HbS}).$$

În cazul aceluiași triplet, dacă în loc de litera a doua (adică dT→dA) se va schimba prima literă (de exemplu dC→dT) tot printr-un proces de transversie, această modificare va determina producerea codonului AAA, care va favoriza încorporarea lizinei, producînd astfel Hb—C etc.

În general, lanțul polipeptidic sintetizat ca urmare a unei mutații cu sens greșit pierde o parte din proprietățile lanțului original, motiv pentru care aceste mutații constituie, de obicei, „dezavantaje selective".

Ele se pot păstra la populația generală, cu condiția să fie „mascate" la heterozigoți, astfel încît numai homozigoții să fie eliminați prin selecție. Caracterele dezavantajoase „dominante" dispar repede din populație, datorită selecției naturale, care elimină toți indivizii purători ai alelei respective, chiar și într-o singură doză (heterozigoții). Cu alte cuvinte, alelele dezavantajoase dominante sînt eliminate repede prin selecție.

Din punct de vedere teoretic există însă o probabilitate foarte mică ca lanţul polipeptidic modificat ca urmare a unei mutaţii cu sens greşit să formeze o „proteină funcţională", a cărei utilitate să depăşească dezavantajul pricinuit de pierderea proprietăţilor lanţului original, constituind astfel un *avantaj selectiv*. În acest caz, frecvenţa în populaţia generală a mutanţilor purtători ai noului caracter va creşte repede ca urmare a selecţiei naturale şi indivizii respectivi vor tinde să înlocuiască complet pe cei de tip original, acum dezavantajaţi. Se pare că acesta este principalul mecanism al „microevoluţiei". Macroevoluţia pare să fie explicată mai curînd de către alterările întinse.

C. Cuvîntul nou format *nu are sens* (tripletul modificat face parte din cele 2 triplete nonsens), deci el nu va putea codifica nici un aminoacid, iar lanţul polipeptidic va fi întrerupt la acest nivel, nemaifiind capabil să participe la formarea proteinei din care făcea parte în mod normal. Aşadar, sinteza proteinei corespunzătoare va fi complet blocată. Acest tip de mutaţii se numesc mutaţii nonsens*.

2. *Inserţia unei perechi de nucleotide* este o mutaţie în care, la un moment dat, dublul helix ADN se lungeşte cu o pereche de nucleotide care apar „în plus", intercalîndu-se în secvenţa normală. Nu se cunoaşte exact mecanismul prin care se produce inserţia, dar este evident că ea implică ruperea cel puţin a unuia dintre cele două schelete zahăr-fosfat ale ADN-ului în punctul respectiv şi apoi reunirea celor două capete secţionate.

Inserţia poate fi „indusă" prin agenţi mutageni, capabili să efectueze această rupere-reunire. Printre aceştia se numără pH-ul scăzut, coloranţii acridinici şi, poate, alţi agenţi.

3. *Deleţia (suprimarea) unei perechi de nucleotide* este o mutaţie în care, la un moment dat, dublul helix ADN se scurtează cu o pereche de dezoxinucleotide care dispar din secvenţa nor-

* Există şi aici o probabilitate extrem de mică, dar diferită de zero, ca în anumite cazuri speciale cele două fragmente de lanţ polipeptidic rezultate (corespunzînd unei întreruperi la un anumit nivel foarte particular) să poată alcătui, cel puţin unul dintre ele, o proteină funcţională a cărei apariţie în locul celei normale să constituie un avantaj selectiv apreciabil pentru fiinţa din care face parte. Atunci, noul caracter, sau, mai exact, mutanţii care-l poartă, va fi selecţionat preferenţial în cursul generaţiilor ulterioare, constituind, ca şi în cazul precedent, un nou pas pe scara evoluţiei.

Scanned with OKEN Scanner

mală. Se pare că deleţiile sînt produse atît de către aceiaşi agenţi ca şi inserţiile (pH-ul scăzut şi coloranţii acridinici), cît şi de către radiaţii*.

II. Mutaţii genice întinse. În general, mutaţiile întinse au un mecanism de producere similar cu mutaţiile punctiforme, dar implică o acţiune mai energică a agentului mutagen. Cu alte cuvinte, este vorba de înlocuiri, inserţii şi deleţii multiple.

Întrucît „alterarea" textului genetic pe care o implică este foarte mare, aceste mutaţii sînt în general incompatibile cu viaţa şi de aceea le putem observa foarte rar. În afară de cele trei fenomene arătate mai sus apare şi un al patrulea, numit *inversie*, în care un segment de ADN (alcătuit din cîteva perechi de dezoxinucleotide) se rupe din poziţia normală şi se „resudează" în poziţie inversă. Acelaşi fenomen poate avea loc şi la nivelul cromozomilor.

Alterarea mesajului genetic, determinată de inversia intragenică, este în general proporţională cu dimensiunea segmentului inversat. Dacă dimensiunea e mică, mesajul se resincronizează şi consecinţele fenotipice sînt relativ reduse. Dacă lungimea segmentului interesat este mare, resincronizarea nu mai poate asigura recăpătarea unei părţi din funcţionalitate.

Aparent paradoxal, efectul nociv al inversării intragenice este mult mai mare decît cel al inversării cromozomice, care menajează de obicei integritatea genelor cuprinse în segmentul inversat.

■

Din punctul de vedere al *naturii genei alterate*, mutaţiile genice sînt de mai multe feluri:

---

* Brenner şi Crick au studiat, cu ajutorul metodei inducerii de inserţii şi deleţii, proprietăţile de „resincronizare" ale codului genetic, confirmînd astfel valoarea de 3/1 a raportului de codificare. Astfel, producerea a una sau două deleţii ducea la pierderea unui caracter ce se datora lanţului polipeptidic a cărei sinteză o guverna cistronul respectiv. Acelaşi lucru era obţinut prin introducerea a una sau două inserţii. Un număr de trei (sau multiplu de trei) deleţii sau inserţii permiteau „recăpătarea" parţială a proprietăţii respective, deci mesajul era „resincronizat". Acelaşi lucru se întîmplă cînd se asociază modificări opuse ca semn (deleţii şi inserţii), dar în număr egal.

Scanned with OKEN Scanner

1. *Mutaţii ale genelor structurale.* Acestea au ca rezultat apariţia de noi alele care codifică un lanţ polipeptidic, şi deci o proteină, ce conţine o modificare structurală minimă. Efectele lor au fost discutate în detaliu mai sus.

2. *Mutaţii ale genelor de control,* care se subîmpart, în funcţie de tipul acestora din urmă, în:

a) *Mutaţii de genă operatoare,* a căror analiză (Jacob şi Monod, 1961) permite discriminarea a trei forme alelice:

o^+ = alela normală, ce asigură operonului proprietatea de a fi „inductibil";

o^c = „o constitutiv", insensibilă la acţiunea represorului. Operonul în subordine funcţionează la capacitatea maximă în tot timpul vieţii celulei. Enzimele codificate devin „în bloc" constitutive;

o^0 = „o inactivat". Gena operatoare nu mai este capabilă să declanşeze funcţionalitatea operonului. Majoritatea mutaţiilor de operator sînt de acest tip.

b) *Mutaţii de genă reglatoare.* Analiza acestora a permis discriminarea tot a trei forme alelice:

i^+: asigură sinteza permanentă a represorului, care va scăpa de sub control operonul subordonat numai atîta vreme cît el însuşi este „reprimat" (blocat) de către substanţa inductoare. Operonul este inductibil;

i^-: gena reglatoare este inactivată, devenind incapabilă să determine sinteza represorului. Operonul devine „aparent constitutiv" ca şi în cazul o^c, dar numai pînă în momentul apariţiei în citoplasmă a unei alte alele i^+;

i^s: gena reglatoare este astfel încît structura represorului îl face pe acesta din urmă insensibil la acţiunea inductorului. Consecinţa fenotipică este similară cu cea a alelei o^0.

Subliniem cu această ocazie că mutaţiile care au loc la nivelul genelor de control nu diferă, ca mecanism de producere, de cele care au loc la nivelul genelor structurale. Clasificarea de mai sus nu are alt rol decît de a pune în evidenţă *deosebirea de efect fenotipic* în funcţie de locul producerii mutaţiei.

Menţionăm, de asemenea, că din punctul de vedere al capacităţii de a se restabili o funcţie alterată printr-o mutaţie anterioară, mutaţiile se împart în:

Scanned with OKEN Scanner

1. *Mutații „înainte" sau directe (Forward mutations),* care modifică funcția primitivă prin schimbarea unui nucleotid din genă.

2. *Mutații inverse (Back-mutations* sau *reverse-mutations),* care restabilesc complet funcția pierdută, efectuînd înlocuirea nucleotidului anormal cu cel normal.

3. *Mutații supresoare,* care restabilesc parțial funcția pierdută printr-un mecanism de „resincronizare" intragenică sau de compensare funcțională a lanțului polipeptidic respectiv.*

Așadar, producerea unei mutații, de orice natură ar fi ea, are ca rezultat apariția în interiorul unei clone celulare sau, după caz, a unui *phylum,* a unei subclone sau a unui *subphylum,* care va conține acea mutație, cu condiția să fie „compatibilă cu viața" sau, cu alte cuvinte, ca mutantul să nu fie letal.

La nivelul monocelularelor, mutația a fost singura sursă a variabilității genetice. Mai tîrziu, o dată cu apariția reproducerii sexuate, gama de variabilitate a devenit mult mai bogată, datorită posibilității de „recombinare" a caracterelor deja existente, *dar numai în limitele permise de mutații,* care *reprezintă în continuare singura sursă de apariție a caracterelor cu adevărat noi.*

Faptul că mutațiile „avantajoase" au fost promovate prin selecția naturală, în dauna mutațiilor „dezavantajoase" și de cele mai multe ori chiar a „tipului sălbatic de origine" explică tabloul actual al biosferei, în care fiecare populație pare „adaptată" la condițiile de mediu în care trăiește. De fapt, condițiile de mediu au influențat în două moduri fundamentale evoluția:

a. *Prin agenții mutageni existenți***, în primul rînd radiațiile și temperatura, care au lărgit „gama de încercări aleatoare" a

---

* Date recente au arătat că aceste mutații sînt localizate la nivelul segmentelor ADN care codifică sinteza diverselor tipuri de ARN-t, schimbînd specificitatea de „traductor" a unuia dintre ei. Astfel, acesta va „traduce" întotdeauna în mod greșit codonul căruia îi corespunde, ceea ce duce la încorporarea de aminoacizi anormali ori de cîte ori apare în ARN-m codonul respectiv. Atunci cînd această „greșeală de traducere" compensează o „greșeală de text", care avea un efect fenotipic spectaculos, mutanții respectivi pierd acest caracter. De aici și numele de mutații supresoare.

** Subliniem cu această ocazie că specificitatea mutației induse de un factor mutagen oarecare *nu este cîtuși de puțin „adecvată" prin natura ei,* pentru a favoriza rezistența față de acel factor.

Scanned with OKEN Scanner

populaţiei vii*: creşterea numărului de mutaţii (încercări) duce implicit la creşterea probabilităţii de a obţine o „coincidenţă favorabilă".

b. *Prin acţiunea de selecţie* pe care au exercitat-o factorii de mediu *au canalizat* mutaţiile avantajoase survenite — deşi erau în procent minim — pe o linie evolutivă din ce în ce mai „potrivită", care în ultimă instanţă a dus la creşterea compatibilităţii populaţie-mediu. Această creştere a compatibilităţii, numită în biologie adaptare, este un *fenomen de genetică a populaţiilor*, căci mutaţia implică trecerea de la o generaţie la alta, deci mai mult decît un individ, iar selecţia implică cel puţin doi indivizi, între care să exercite o preferinţă şi nu un fenomen individual, care, pentru a fi explicat logic, ar implica în mod necesar acceptarea a cel puţin o premisă finalistă (referitoare la caracterul „obligatoriu adecvat" al mutagenezei).

BIBLIOGRAFIE

Alfrey, G., „Expl. Cell. Res.", 9, 1963, 183—212.

Begg, C.M.M., An introduction to Genetics, The English University Press, Londra, 1959.

Barbu, E., „C.R. Acad. Sci. Paris", 259, 1964, 1454—1457.

Benzer, S., „Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.", 45, 1959, 1607.

Idem, *Symposium on the Chemical Basis of Heredity*, John Hopkins, Press, Baltimore, 1959, p. 70.

Idem, „Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.", 41, 1955, 344.

Idem, „Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.", 47, 1961, 403.

Brachet, J., *The Biological role of RNA*, Elsevier, 1959.

Branner, S., S. Benzer, L. Barnet, „Nature", 182, 1958, 983—985.

Branner, S., *CIBA Foundation Symposium on Biochemistry of Human Genetics*, Ed. G.E. Wolstenhohne şi G.M. O'Connor, Londra, 1959, 304—316.

Carlsen, E. N., „Nature", 202, 1964, 984—986.

Commoner, B., „Nature", 202, 1964, 960—968.

* Rata normală de mutaţie „spontană" la om a fost calculată la valori de ordinul 10^{-5}.

Scanned with OKEN Scanner

Comoroșan, S., *Probleme de actualitate în medicină,* Editura Medicală București, 1961, p. 43.

Crick, F. H. C., „Science", 139, 1963, 461—464.

Fincham, J. R. S., „Brit. Med. Bull.". 18, 1962.

Fischer, K. W., „Brit. Med. Bull.". 18, 1962.

Fraenkel-Conrat, H., W. M. Stanley, „Chemical and Engineering", 1961, 136—144.

Freese, E., *Molecular Genetics,* ed. J. H. Taylor, Academic Press, New York, 1963.

Hartman, Ph. E., *Symposium on the Chemical Basis of Heredity,* John Hopkins Press, Baltimore, 1957, p. 409.

Hotchkiss, R., „Expl. Cell. Res.", 9, 1963, 120—123.

Jacob și Monod, „J. Mol. Biol.", 3, 1961, 318.

Jacob, F., D. Perrin, C. Sanchez, J. Monod, „C. R. Acad. Sci. Paris", 250, II, 1960, 1727.

Kuempel, L. P. și A. B. Pardee, „J. of. Cell. and Comp. Physiol." 62, 1963, 15.

Maale, O., „J. of Cell. and Comp. Physiol.", 62, 1963, 31—45.

Marmur, J., P. Doty. „J. Mol. Biol.", 3, 1961, 585.

Monod, J., J. P. Changeux, Fr. Jacob, „J. Mol. Biol.", 6, 1963, 306—329.

Morgan, T. H., *Bazele științifice ale evoluției,* București, 1938.

Morgan, T. H., A. H. Sturtevant, H. J. Müller, C. B. Bridges. *Le mécanisme de l'Hérédité Mendélienne,* Bruxelles, 1923.

Potter, R., „Expl. Cell. Res.", 9, 1963, 259—261.

Preda, V., *Biologie teoretică,* Editura „Welthar", Sibiu, 1944.

Rickenberg, H., G. N. Cohen, G. Butting, J. Monod, „Annales de l'Institut «Pasteur»", 91, 1956, 829.

Sager, R. și Fr. J. Ryan, *Cell Heredity,* John Wiley and Sons, Inc; New York—Londra, 1962.

Schildkraut, C. L., J. Marmur, P. Doty, „J. Mol. Biol.", 3, 1961, 595.

Simpson, M. V., „Ann. Rev. Biochem.", 35, 1962, 33—362.

Tatum, *Biochemical genetics and evolution,* Vth. International Congress of Biochemistry, Moscova 10—16 august 1961.

Wall, R., „Nature", 193, 1962.

Wang, T. J., „Expl. Cell. Res.", 9, 1963, 213—219.

Scanned with OKEN Scanner

7

Bazele geneticii mendeliene

Apariția familială a caracterelor normale sau patologice este un fapt cunoscut de multă vreme. De pildă, în vechile cărți ebraice se menționează o familie de giganți cu polidactilie. Aceeași malformație a mîinilor a fost observată apoi și consemnată în secolul al XVII-lea de Digby. El a întîlnit o familie la care prezența unui deget suplimentar a fost transmisă de-a lungul a cinci generații.

Explicația acestor fenomene era însă necunoscută. De-abia la începutul secolului al XX-lea, după descoperirea lucrărilor lui Mendel, se constată că transmiterea caracterelor se face conform unor modele valabile pentru întreaga lume organică, inclusiv om.

Cercetări asupra transmiterii caracterelor ereditare se făcuseră și înainte de Mendel, dar marele merit al acestuia este de a fi găsit un material adecvat și de a-l fi prelucrat matematic.

Mendel a folosit pentru experiențele sale plante din linii pure, care se deosebeau între ele printr-unul (monohibridism) sau mai multe caractere (di- și polihibridism) ușor de sesizat și mai ales puțin influențate de acțiunea mediului înconjurător. Dacă plantele nu ar fi fost pure sau dacă diferențele ar fi fost determinate de factori complecși, studiul transmiterii caracterelor ereditare nu ar fi dat rezultate concludente.

Mendel a folosit mai multe soiuri de plante: *Pisum, Phaseolus, Linaria, Zea* etc., dar îndeosebi mazărea.

Încrucișînd mazărea cu bobul galben cu mazărea cu bobul verde, el a remarcat că toți hibrizii din prima generație au boabe de culoare galbenă. În generația următoare, rezultată din încrucișarea hibrizilor cu boabe galbene, paralel cu plantele al căror bob are culoarea galbenă, reapar și plante cu bob verde. Raportul numeric între cele două feluri de plante era constant de 3 : 1. Mendel a numit caracterul galben dominant, iar pe cel verde, recesiv.

Scanned with OKEN Scanner

În încrucișarea dintre soiuri de mazăre care aveau forma bobului diferită, netedă sau zbîrcită, fenomenul a fost asemănător. În prima generație au apărut numai caracterele dominante — bobul neted. În generația a doua a reapărut și caracterul recesiv — bobul zbîrcit. Raportul a fost din nou 3 : 1, trei boabe netede față de unul zbîrcit.

Concluzia logică a acestor cercetări a fost că toate caracterele studiate sînt determinate de factori ereditari care se transmit și se manifestă în mod particular. În prima generație toți hibrizii sînt heterozigoți, adică au un caracter dominant și unul recesiv. În mod obișnuit se manifestă numai caracterul dominant. În generația a doua, acești factori se separă unul de altul și, în funcție de rearanjarea lor, vor rezulta noile caractere:

P	GG × vv;	
F_1	Gv + Gv + Gv + Gv;	Toți sînt heterozigoți.
F_2	GG + Gv + Gv + vv.	

De obicei, 25% dintre plante au numai factorii ereditari care determină caracterul dominant (homozigoți); 50% au ambii factori (heterozigoți), dar se manifestă numai cel dominant; 25% sînt homozigoți recesivi.

Dacă încrucișările continuă, procesul se repetă în mod constant. Din plantele cu caracterul dominant galben sau neted heterozigote vor rezulta, în proporție de 3 : 1, plante cu bob galben sau neted și plante cu bob verde sau zbîrcit. Plantele homozigote pentru un caracter recesiv vor da, prin autofecundare, numai descendenți care manifestă cracterul recesiv, iar cele dominant homozigote, numai plante care poartă caracterul dominant.

Aceste experiențe au permis formularea celei mai importante legi a mendelismului — legea segregării independente a caracterelor. Această lege presupune că materialul ereditar este divizibil, descendenții putînd moșteni fie un caracter matern, fie un caracter patern. Transmiterea unui factor ereditar nu este influențată de partenerul său. Această lege are un caracter universal. Ea este valabilă atît pentru plante, cît și pentru animale. Iată un exemplu devenit clasic, observat la mamifere. Dacă se încrucișează două sușe de șoareci, unii cu blana gri și

Scanned with OKEN Scanner

alţii cu blana albă (albinoşi), în prima generaţie toţi descendenţii vor moşteni numai culoarea dominantă gri. Dacă se încrucişează între ei membrii primei generaţii, se observă, ca şi la plante, segregaţia independentă a celor două caractere G şi a:

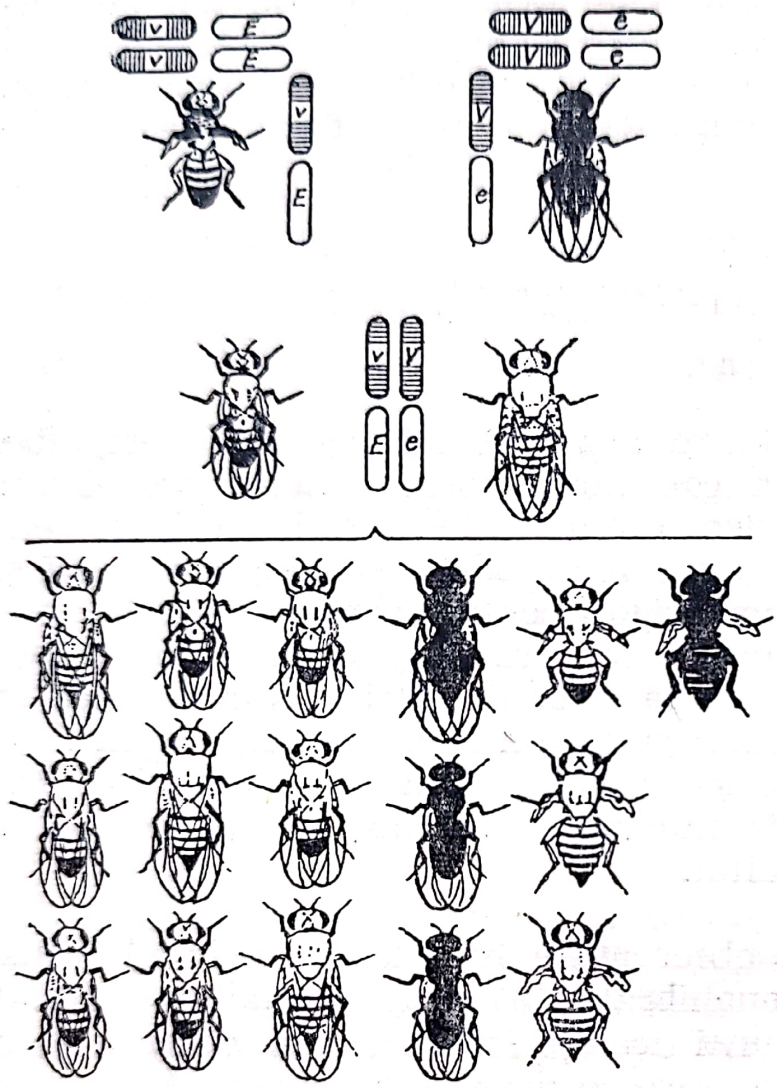
P	GG × aa;	G = gri
F_1	Ga + Ga + Ga + Ga;	a = alb
F_2	$^1/_4$ GG $^2/_4$ Ga $^1/_4$ aa.	

Aşadar, trei pătrimi dintre animale vor fi gri şi un sfert, albe. Dacă se încrucişează în continuare şoarecii albi între ei vor rezulta numai pui albi, deoarece animalele sînt homozigote pentru caracterul a. Şoarecii gri vor produce şi descendenţi gri şi albi. Descendenţii gri, homozigoţi pentru caracterul dominant G ($^1/_4$), vor da naştere numai la pui gri, homozigoţi pentru caracterul gri G dominant. Celelalte două pătrimi vor produce în generaţia F_3, ca şi în generaţia F_2, un sfert homozigoţi gri, două pătrimi heterozigoţi gri şi un sfert, homozigoţi albi. Procesul poate continua timp de numeroase generaţii, obţinîndu-se în permanenţă acelaşi rezultat.

Dihibridismul. Dacă observaţiile lui Mendel privind transmiterea caracterelor monohibride sînt corecte, fiind determinate de factori ereditari, atunci acelaşi fenomen s-ar observa şi la încrucişarea între plante care se deosebesc prin două sau mai multe caractere. Pentru a demonstra universalitatea observaţiilor sale, Mendel a încrucişat soiuri pure de mazăre cu bob de culoare verde şi aspect neted cu soiuri cu bob galben şi zbîrcit.

Conform legii dominanţei, în prima generaţie toţi hibrizii vor manifesta numai caracterele dominante — galben şi neted. Dacă aceste plante sînt autofecundate, în generaţia a doua, F_2, se întîlnesc patru tipuri de combinaţii: neted şi galben; zbîrcit şi galben; neted şi verde; zbîrcit şi verde. Aceste tipuri se întîlnesc pe serii mari, într-o proporţie mai mult sau mai puţin riguroasă de 9 : 3 : 3 : 1.

Deoarece sînt posibile 16 combinaţii, plantele recesive pentru ambele caractere reprezintă numai $^1/_{16}$; plantele heterozigote



42. Diagramă arătînd distribuția a două caractere mutante — „Vestigial" și „Eben" (după Morgan)

pentru un caracter dominant și unul recesiv, $^3/_{16}$; heterozigoții pentru un caracter recesiv și unul dominant, $^3/_{16}$, iar plantele cu ambele caractere dominante, $^9/_{16}$.

Ca și în cazul monohibridismului, fenomenul este universal. Pentru a demonstra valabilitatea legilor mendeliene, Morgan a încrucișat drosofile de culoare gri și cu aripi vestigiale cu drosofile de culoare neagră și cu aripi lungi.

În prima generație toate musculițele au manifestat numai caracterele dominante (aripi lungi normale și culoarea gri [LG]). În generația a doua a avut loc segregația caracterelor, dovadă că fiecare individ era heterozigot pentru aceste două caractere. Frecvența combinațiilor a fost următoarea: nouă drosofile de culoare gri și cu aripi lungi; trei de culoare gri și cu aripi vestigiale; trei negre și cu aripi lungi; una neagră și cu aripi vestigiale. Se observă că proporția întîlnită în cazul monohibridismului se păstrează și în acest caz.

De asemenea, proporția rămîne aceeași și atunci cînd se încrucișează organisme tri- sau polihibride.

Explicația transmiterii mendeliene a caracterelor. Analiza felului cum se transmit caracterele duce, în mod firesc, la ipoteza că în timp ce părinții din prima generație filială au ambele caractere, dar se manifestă numai unul, în generația următoare o parte dintre descendenți sînt puri, deci au numai un singur caracter, iar o altă parte au, ca și părinții, ambele caractere. Pentru a se realiza o asemenea repartiție, se presupune că în cursul gametogenezei genele care condiționează aceste caractere segregă independent. Deoarece fiecare gamet are doar jumătate din numărul de cromozomi specific speciei, înseamnă că o genă se găsește pe un cromozom și cealaltă genă, pe cromozomul omolog. În cazul cînd sînt cercetate două caractere diferite, determinate de două perechi de gene, ele se pot găsi pe două perechi de cromozomi.

Procesul are loc atît în spermatogeneză, cît și în ovogeneză, de aceea apariția unuia sau altuia dintre caractere este imprevizibilă. Teoretic, fiecare dintre cei doi spermatozoizi are o șansă din două de a fecunda un ovul. Deoarece în cazul monohibridismului există două feluri de ovule, sînt posibile patru combinații: două homozigote și două heterozigote. La fel se petrec lucrurile și în încrucișările care diferă prin două sau mai multe caractere. În ipoteza că diferă doar prin două caractere, se întîlnesc patru spermatozoizi diferiți și patru ovule diferite. Așadar, sînt posibile 16 combinații. Iată ce rezultate se obțin din încrucișarea drosofilelor care diferă prin lungimea aripilor și culoarea corpului:

	Gv	GL	Ln	nv
Gv	GGvv	GGLv	GLvn	Gnvv
GL	GGLv	GGLL	GLLn	GLnv
Ln	GLnv	GLLn	LLnn	Lvnn
nv	Gnvv	GLnv	Lvnn	nnvv

Dintre aceste combinații, numai două sînt homozigote (GGLL și nnvv). Din încrucișarea lor rezultă din nou patru feluri de gameți, iar numărul de combinații va rămîne același.

Concluziile cercetărilor lui Mendel au fost sistematizate mai tîrziu de Lang sub numele de legi:

Scanned with OKEN Scanner

1. Uniformitatea hibrizilor din prima generație. În hibridările dintre indivizi heterozigoți se va manifesta la hibrizii din prima generație numai caracterul dominant.

2. Segregația caracterelor. În generația a doua reapar caracterele parentale recesive, mascate în prima generație de efectele genelor dominante. Proporția dintre caracterele dominante și recesive este stabilă.

3. Segregația independentă a caracterelor care se transmit independent la descendenți.

Genetica mendeliană și genetica umană

Mendel a folosit în experiențele sale un material ideal din punct de vedere genetic. O asemenea situație este rareori întîlnită la om. Caracterele monomerice — caractere determinate de o singură genă — sînt mult mai frecvente în patologie. Ele se supun deseori legilor lui Mendel. Aceasta nu înseamnă că trăsăturile somatice sau psihice, al căror mod de transmitere nu mai este atît de simplu, nu sînt ereditare sau predominant ereditare. Ele sînt determinate însă de acțiunea convergentă a mai multor gene — polimerie —, fiecare genă acționînd într-un anumit moment al dezvoltării caracterului.

De asemenea, legile lui Mendel nu sînt aplicabile marii majorități a malformațiilor congenitale. Tot ce se poate spune despre ele este doar că au tendința de a apărea uneori familial. Trebuie să recunoaștem că nu știm cum se transmit marea majoritate a caracterelor umane. Ignoranța noastră nu ne duce totuși la admiterea unei explicații naive, ca ipoteza eredității contopite, ipoteză care admite că descendenții moștenesc caractere intermediare între cele ale părinților. Asemenea explicații de largă circulație în biologia premendeliană, și uneori încă în cîteva școli antropologice, nu mai pot fi apărate, deoarece dacă ele ar fi reflectat un fenomen real, atunci ar fi trebuit să existe de mult o perfectă omogenitate morfologică. Or, este evident că variabilitatea nu a scăzut de loc în ultimele mii de ani.

Principiile mendeliene, cu toate limitele inerente oricărui sistem care încearcă să cuprindă întreaga variabilitate organică și

Scanned with OKEN Scanner

să o reducă la anumite scheme, rămîn deosebit de utile pentru genetică.

Dominanța. Fenomenul de dominanță a fost studiat multă vreme numai la nivel fenotipic. Este ușor de înțeles acest lucru dacă ne gîndim la posibilitățile tehnice ale primelor decenii din secolul nostru. În această perioadă, și chiar mai tîrziu, prin dominanță se înțelegea capacitatea unei gene de a-și manifesta efectele în stare heterozigotă. Deci, teoretic, orice purtător al unei gene dominante manifestă, în grade diferite, efectele specifice ale acestei gene. Dominanța se referă întotdeauna la alela sa. Iar dominant este efectul și nu gena.

Modul de transmitere a unui caracter dominant depinde de situarea genei care-l determină în autozomi sau în gonozomi. Cînd gena este situată în autozomi și se află în stare heterozigotă, așa cum se întîmplă obișnuit în patologia umană, transmiterea se face în mod particular:

Astfel, transmiterea genei se face direct de la părinți la descendenți de-a lungul unui număr infinit de generații dacă nu intervine selecția naturală.

Raportul dintre numărul de afectați și numărul de indemni este aproape 1 : 1:

P Dr × rr; D = dominant

F_1 Dr × Dr × rr × rr. r = recesiv

Cele două sexe sînt afectate în proporții egale.

Dacă ambii părinți sînt heterozigoți pentru o genă dominantă, atunci raportul dintre afectați și indemni se schimbă:

P Dr × Dr;

F_1 DD × Dr × Dr × rr.

Deci, 75% dintre descendenți sînt purtătorii caracterului respectiv.

Dacă unul dintre părinți este homozigot pentru o genă dominantă și celălalt homozigot pentru o genă recesivă, toți descendenții vor fi heterozigoți afectați:

P DD × rr;

F_1 Dr × Dr × Dr × Dr.

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, vor fi afectați toți descendenții dacă unul dintre părinți este homozigot și celălalt heterozigot:

P DD × Dr;
F_1 DD × Dr × DD × Dr.

În acest caz, 50% dintre descendenți vor fi homozigoți și 50%, heterozigoți.

Pentru a putea afirma că o genă este dominantă trebuie ca trăsătura pe care o condiționează să fie prezentă la cel puțin trei generații. Dacă caracterul apare numai la două generații, nu se poate stabili dacă gena este dominantă sau recesivă, deoarece poate să apară fenomenul de pseudodominanță. Dacă purtătorul unei gene anormale recesive în stare homozigotă se căsătorește cu un heterozigot pentru aceeași genă, atunci 50% dintre descendenți vor fi afectați, adică apare rația așteptată în ipoteza că gena era dominantă.

O problemă importantă pe care o ridică cercetarea dominanței este de a stabili dacă există sau nu vreo diferență între acțiunea unei gene dominante în stare heterozigotă și în stare homozigotă. La început s-a crezut că efectele sînt aceleași, indiferent dacă gena era într-o singură doză sau în doză dublă. Ipoteza a fost greu de demonstrat la om, deoarece homozigoții se întîlnesc rar.

Cercetările de genetică medicală au demonstrat însă că această afirmație nu este, sau nu pare să corespundă întotdeauna unui fenomen real. Astfel, dintr-o căsătorie în care ambii parteneri aveau brahifalangie, o scurtare anormală a falangelor, s-a născut un copil cu tulburări scheletice importante. Tulburările au fost atribuite homozigoției (Mohr). Mai tîrziu, Snyder a remarcat că din căsătoria a doi bolnavi cu telangectazie s-a născut un copil cu malformații mult mai grave, care a murit curînd după naștere prin hemoragii multiple. Johnson a întîlnit o familie în care cei doi părinți aveau o formă ușoară de epidermoliză buloasă. Din această căsătorie au rezultat opt copii, doi dintre ei avînd o formă deosebit de gravă de epidermoliză.

Ca și în primul exemplu, se presupune că gravitatea tulburărilor întîlnite în aceste cazuri este consecința prezenței genei în doză dublă.

Scanned with OKEN Scanner

În general, dominanța se manifestă încă din viața uterină. Există însă și cîteva observații care arată că dominanța poate să apară mai tîrziu, în cursul vieții. Fenomenul este cunoscut și în genetica animală și în genetica umană și cuprinde atît aspecte patologice, cît și aspecte normale. Din încrucișarea urșilor albi cu urși bruni se nasc pui care au la naștere culoarea albă. Cu timpul, aceștia devin însă bruni. Această succesiune de caractere a fost numită dominanță succesivă. Ca exemplu de dominanță succesivă la om, Huron și Ruffier dau evoluția sistemului Lewis. Acest sistem este format din doi antigeni Le (*a*) și Le (*b*). La nou-născut se întîlnesc ambii factori Le (*a*+*b*+). După un an de la naștere copilul prezintă numai unul din cei doi antigeni sau nici unul Le (*a*—*b*+), Le (*a*+*b*—) sau Le (*a*—*b*—). Faptul că *b*, de pildă, continuă să rămînă dominant, în timp ce *a* nu mai poate fi detectat a fost considerat un fenomen de dominanță succesivă.

Mult mai greu de interpretat sînt tulburările clinice determinate de mutațiile dominante care apar în cursul vieții. Un exemplu caracteristic îl constituie coreea Huntington. Ea ar putea fi interpretată totuși ca o schimbare a dominanței, deci ca o dominanță succesivă.

Dominanța legată de sex este o formulare improprie, care a rămas în genetică dintr-un spirit de conservatorism. În intenția geneticii clasice și în spiritul geneticii moderne, ereditatea legată de sex se referă la caracterele determinate de gene situate pe cromozomul X. De aici cealaltă expresie frecvent folosită în genetică — caracter legat de X.

Deoarece femeile au doi cromozomi X, mutația poate avea loc pe oricare dintre ei, efectele fiind aceleași. De obicei mutația este în stare heterozigotă. Pentru ca efectele să se manifeste la bărbat — care are numai un singur cromozom X — el trebuie să poarte necesar cromozomul cu gena mutată. Sexul descendenților afectați depinde de părintele afectat.

În cazul în care mama este afectată și heterozigotă:

P $Xx \times xy$; X = cromozom cu gena dominantă

F_1 $Xx + Xy + xx + xy$, x = cromozom cu gena recesivă

ea va transmite caracterul și băieților și fetelor. Jumătate dintre descendenți vor fi purtători.

Dacă mama este homozigotă, eventualitate probabil rară, și tatăl normal, atunci:

P XX × xy;
F_1 Xx + Xy + Xx + Xy,

și toți descendenții, indiferent de sex, vor fi afectați.

Dacă tatăl este afectat și mama indemnă:

P xx × Xy;
F_1 xX + xy + Xx + xy,

vor fi afectate numai fetele. Băieții vor fi întotdeauna indemni. La nivelul populației vor exista deci de două ori mai multe femei afectate decît bărbați afectați.

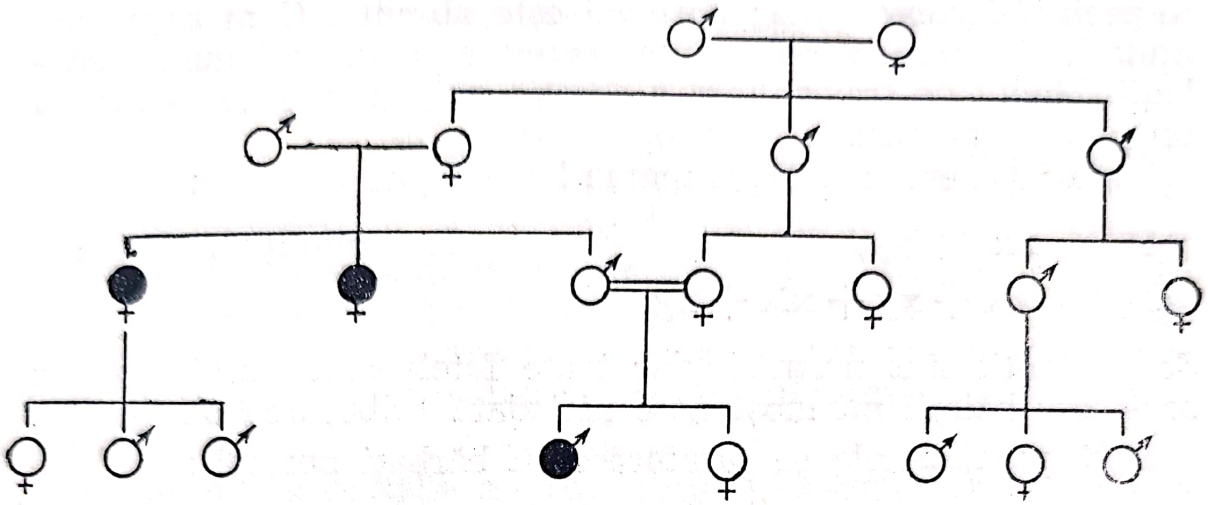
Recesivitatea. În spiritul geneticii clasice, o genă recesivă nu poate fi detectată la nivel fenotipic decît dacă este în formă homozigotă. Ca și pentru genele dominante, se diferențiază și aici gene recesive autozomale și gene legate de cromozomul X.

În cazul recesivității autozomale, apariția unui caracter determinat de o astfel de genă presupune că părinții sînt heterozigoți și indemni:

P Dr × Dr;
F_1 DD × Dr × Dr × rr.

Așadar, în mod obișnuit numai un sfert dintre descendenții părinților heterozigoți vor manifesta caracterele respective: $^2/_4$ sînt heterozigoți și $^1/_4$ homozigoți pentru o genă dominantă. Deci $^1/_4$ dintre descendenți vor fi afectați și 50% purtători, toți transmițînd astfel mai departe gena anormală descendenților. De obicei ambele sexe sînt la fel de frecvent afectate.

Un caracter important care sprijină natura recesivă a unei gene este creșterea frecvenței căsătoriilor consanguine printre părinții purtătorilor. În asemenea uniuni, șansa ca ambii soți să moștenească aceeași genă de la un strămoș este mult mai mare decît în uniunile dintre soții care nu sînt rude. În aceste cazuri, șansa de a întîlni un partener care să poarte aceeași genă este condiționată de răspîndirea genei respective în populație.



43. Arborele genealogic al unei familii în care transmiterea caracterului s-a făcut recesiv

INCIDENȚA CĂSĂTORIILOR CONSANGUINE ÎN CÎTEVA BOLI RECESIVE (DUPĂ NEEL ȘI SCHULL)

Caracterul	Incidența căsătoriilor între veri primari printre părinții afectaților	Incidența aproximativă a căsătoriilor între veri primari în populația generală
Albinism		
Europizi	0,18—0,24	0,01
Japonezi	0,37—0,59	0,06
Idioția maurotică infantilă		
Europizi	0,27—0,53	0,01
Japonezi	0,55—0,85	0,06
Ichtioza congenitală		
Europizi	0,30—0,40	0,01
Japonezi	0,67—0,93	0,06
Daltonism		
Europizi	0,11—0,21	0,01
Japonezi	0,39—0,51	0,06

Recesivitatea legată de sex. Dacă mutația este recesivă și se găsește pe unul dintre cromozomii de sex X, caracterul va apărea numai la femeile homozigote și la bărbații hemizigoți. Avînd un singur gonozom X, aceștia vor prezenta caracterul

respectiv, deoarece alela normală este absentă. Cum asemenea mutații sînt rare, aproape întotdeauna sînt afectați numai bărbații. Modul de transmitere a acestor mutații are de asemenea un caracter particular.

Dacă tatăl este afectat și mama homozigotă normală:

P xx × Xy; X = mutație recesivă

F_1 xX + xy + xX + xy,

descendenții sînt normali, dar toate fetele sînt purtătoare. În acest caz băieții nu moștenesc niciodată tulburarea de la tată.

Dacă purtătoarele se căsătoresc cu bărbați normali:

P xX + xy;

F_1 xx + xy + Xx + Xy,

atunci 50% dintre descendenți sînt indemni, 25% (fete) sînt purtătoare și 25% (băieți) sînt afectați. Astfel, orice băiat are o șansă din două de a fi indemn și o șansă din două de a fi purtătorul mutației.

Mai rar se întîmplă ca mama să fie homozigotă pentru o mutație recesivă:

P XX × xy;

F_1 Xx + Xy + Xx + Xy.

În asemenea împrejurări, toți băieții sînt afectați și toate fetele, purtătoare. În cadrul populației, numărul de băieți afectați va fi, firește, mai mare decît cel de femei afectate.

În general, numărul mutațiilor situate pe cromozomul X este mare. Pînă acum s-au descris aproape 80 de tulburări care se transmit legat de sex. Unele sînt foarte rare și prezintă numai interes cazuistic. Altele sînt însă deosebit de grave, cum este, de pildă, hemofilia.

Alături de genele legate de sex se cunosc și gene cu acțiune limitată la un singur sex. Aceste gene privesc de obicei caractere sau funcții legate de diferențierea sexuală, așa cum este, de pildă, imperforarea vaginală, pubertatea precoce sau testiculul feminizant. Limitarea la un singur sex este un fenomen

greu de explicat. Se presupune doar că un rol important în apariția acestui fenomen neobișnuit revine hormonilor sexuali.

Ereditatea legată de cromozomul Y (holoandrică). Rolul cromozomului Y este de a aduce material genetic necesar orientării zigotului în sens masculin. Cu excepția acestor gene, se pare că cromozomul Y conține foarte puțin material genetic activ. Afirmația este sprijinită de faptul că numărul de mutații localizate pe cromozomul Y este extrem de mic. Dintre mutațiile localizate pe acest gonozom una singură este certă, aceea care pare să determine dezvoltarea părului în urechi (Dronamraju, 1964).

În ipoteza că mutația a avut loc pe gonozomul Y, caracterul se transmite numai pe linie masculină, direct din tată în fiu:

$$P \quad xx \times xY;$$
$$F_1 \quad xx + xY + xx + xY.$$

Femeile sînt totdeauna normale și nasc numai descendenți normali.

Teoria dominanței și a recesivității

Fenomenele de dominanță și de recesivitate au stîrnit de multă vreme un viu interes în rîndurile geneticienilor. Primele ipoteze asupra dominanței au fost emise în 1902 de către Bateson și Saunders. Ei au pornit de la observația reală că unele caractere sînt prezente atunci cînd există genele dominante care le condiționează și lipsesc atunci cînd genele respective nu există. Acesta este conținutul mult discutatei ipoteze prezența-absența. Deși la începutul secolului primise cîteva confirmări experimentale, ipoteza nu a rezistat cercetărilor ulterioare. Așa după cum s-a remarcat mai tîrziu, întreaga concepție se baza pe distincția dintre caractere pozitive și caractere negative. Or, această distincție are un caracter artificial.

Alte ipoteze emise în aceeași perioadă sau ceva mai tîrziu au adus tot atît de puține lămuriri asupra acestui fenomen.

Scanned with OKEN Scanner

Nici presupunerea lui Standfuss că trăsăturile dominante sînt cele mai vechi filogenetic, nici ipoteza opusă a lui Davenport nu au putut fi demonstrate. La primul contact mai strîns cu faptele, ele și-au pierdut valoarea. Trecînd peste alte ipoteze, ca aceea a lui Fischer și Haldane, care au încercat să atribuie dominanța selecției naturale, trebuie să menționăm că explicarea fenomenului de dominanță și recesivitate a fost dată de genetica moleculară.

Numeroase studii au arătat că există o diferență fundamentală între fenomenul de dominanță și recesivitate la nivel fenotipic și la nivel molecular. La nivel fenotipic se respectă principiul totul sau nimic. La nivel molecular, diferența dintre dominanță și recesivitate se șterge. Această ștergere este determinată de faptul că fiecare alelă condiționează sinteza unui lanț polipeptidic propriu.

Așa, de pildă, hemoglobina normală A este formată din două molecule identice, fiecare moleculă, la rîndul ei, fiind constituită din două lanțuri alfa și beta de aminoacizi. Datorită unei singure mutații, un aminoacid este înlocuit cu altul. Apare astfel o hemoglobină anormală. Așa se formează, de exemplu, hemoglobina S. La nivel fenotipic, homozigoții pentru hemoglobina anormală sînt detectați prin efectele grave pe care le prezintă mutația. La nivel molecular se constată însă că sînt prezente ambele tipuri de hemoglobină (A și S), cantitatea de pigment S fiind redusă aproape la jumătate (40—50%). Fenotipic, individul este indemn, deoarece cantitatea de hemoglobină A este suficientă pentru a acoperi nevoile organismului.

Ca atare, hemoglobina A reprezintă caracterul dominant. Hemoglobina S este recesivă, deoarece anemia caracteristică apare doar la homozigoți.

Heterozigoții pentru hemoglobina S prezintă tulburări clinice atunci cînd cantitatea de oxigen scade. În asemenea împrejurări, recesivitatea capătă caracter de dominanță. Din această cauză, Landing a propus ca genele să nu mai fie numite dominante sau recesive, ci să se spună că la nivel biochimic toate sînt penetrante. Gradul lor de manifestare este condiționat de nume-

Scanned with OKEN Scanner

roși factori externi și interni, așa încît între efectul unei gene heterozigote dominante și efectul unei gene heterozigote recesive apare o continuă trecere:

recesiv → clinic indemn → biochimic decelabil → clinic detectabil → dominant-heterozigot cu consecințe grave.

Faptele au început deci să se simplifice. Vorbim de dominanță sau recesivitate din necesitatea de a defini modul cum se transmite un caracter oarecare, dar sîntem în același timp convinși că totul nu este decît o simplă convenție.

Cercetările de biochimie au adus, totodată, și primele explicații ale fenomenului de dominanță. S-a studiat o familie la care s-a observat o reducere a albuminelor din ser. Anomalia este determinată de mutația unei alele care împiedică formarea albuminelor. Cealaltă alelă continua, independent, sinteza proteinei sale. Așadar, absența albuminei este un caracter recesiv, care apare la indivizii ce prezintă ambele mutații. În acest caz, alela normală este dominantă.

Diverse tipuri de dominanță. Dominanța este un fenomen complex care poate prezenta diferite particularități. Pe baza acestor particularități au fost deosebite în genetica clasică patru tipuri de dominanță:

1. Dominanță absolută, de tip *Pisum*. La hibrizii din prima generație nu se manifestă decît caracterul dominant. În generația a doua are loc segregarea caracterelor. Elementul caracteristic al acestei forme de dominanță este imposibilitatea de a diferenția un homozigot pentru un caracter dominant de un heterozigot.

2. Dominanță relativă, de tip *Drosophyla*. La hibrizii din prima generație se pot distinge influențele alelei recesive. Se pare că acest tip de dominanță este tipul obișnuit întîlnit la om.

3. Codominanță sau absența dominanței, de tip *Zea*. În acest tip de dominanță nici unul din caractere nu este dominant. Hibrizii din prima generație au caractere intermediare. Această

Scanned with OKEN Scanner

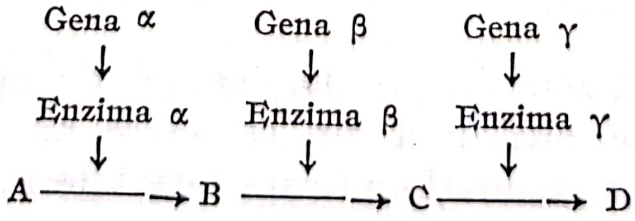
formă de ereditate a fost numită de Timireazev ereditate contopită.

4. Ereditatea în mozaic. În acest caz, la hibrizi se manifestă ambele caractere.

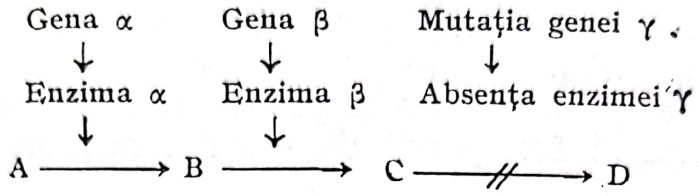
Heterozigoții pot fi recunoscuți uneori după particularități clinice. În anumite boli tulburările apar mai tardiv la heterozigoți decît la homozigoți. Astfel, în hipercolesterolemia esențială familială și în diabetul zaharat se pare că forma infantilă se observă la homozigoți, în timp ce forma tardivă se întîlnește la heterozigoți (Frezal și Rey, 1962). În 1958, Debré susține aceeași idee și pentru hemocromatoză. În alte boli, starea heterozigotă se manifestă prin cîteva semne clinice minore. De exemplu, există o varietate localizată a albinismului, denumită albinism ocular, care se transmite recesiv legat de sex. În această afecțiune, femeile heterozigote pot fi recunoscute după transparența irisului (Waardenburg, 1947) sau după un anumit deficit de pigmentare al retinei (Falls, 1951).

De cele mai multe ori însă diagnosticul heterozigoților se face biochimic. În cazul cel mai simplu, două molecule protidice diferite sînt sintetizate la heterozigoți și identificate prin examen biochimic (hemoglobinoze). În alte cazuri modificările nu sînt de ordin calitativ, ci cantitativ. Ele se reflectă asupra cantității unei proteine specifice, ca, de exemplu, globulina antihemofilică, sau asupra nivelului unei activități enzimatice, ca în galactozemia congenitală.

În sfîrșit, la heterozigoți mai pot fi determinate consecințele secundare ale leziunilor enzimatice și ale blocajelor enzimatice pe care le determină. Dăm alăturat schema unei reacții metabolice în lanț, care transformă un produs inițial *A* într-un produs terminal *D*, sub acțiunea enzimelor α, β, γ, controlate de genele respective.

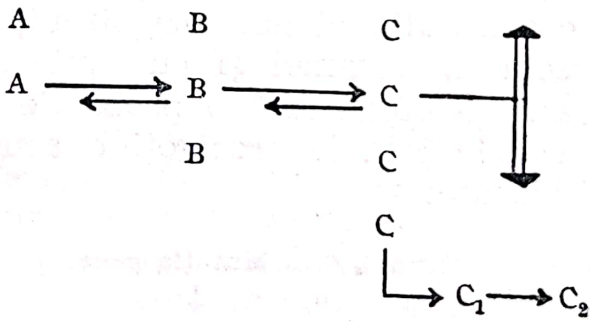


Producerea unei mutații la nivelul genei γ modifică sinteza enzimei γ sau chiar o anulează și blochează lanțul metabolic între *C* și *D*:



La homozigotul recesiv, produsul terminal *D* nu mai apare. Variate tulburări biochimice și clinice pot rezulta din lipsa de formare a produsului terminal. De exemplu, în glicogenoza von Gierke, care constă în acumularea anormală de glicogen, absența glucozo-6-fosfatazei duce la imposibilitatea de a forma glucoză din glucoză-6-fosfat și ca atare la hipoglicemie, tradusă clinic prin transpirații și convulsii.

Deficiența unei reacții specifice în sinteza hormonilor tiroidieni sau ai glandei suprarenale are drept consecință tulburări clinice grave. Blocarea metabolismului între *C* și *D* produce și o acumulare de precursori imediați sau îndepărtați reacției blocate, cît și o eliminare excesivă a unor metaboliți secundari:

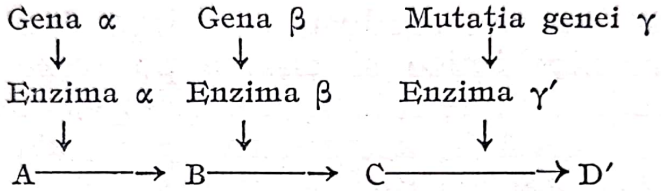


Stocarea de precursori imediați reacției blocate stă la baza a diferite tezaurismoze. De exemplu, tezaurizarea glicogenului în ficat sau mușchi în formele respective de glicogenoze se datorește absenței fosforilazelor specifice care clivează molecula de glicogen. Acumularea de precursori îndepărtați reacției blocate survine numai în cazul în care reacțiile ce preced blocajul sînt reversibile. De exemplu, în porfiria acută intermitentă, alături de acumularea de porfibilinogen, se stochează și acidul δ-aminolevulinic. Excreția crescută a unor metaboliți

Scanned with OKEN Scanner

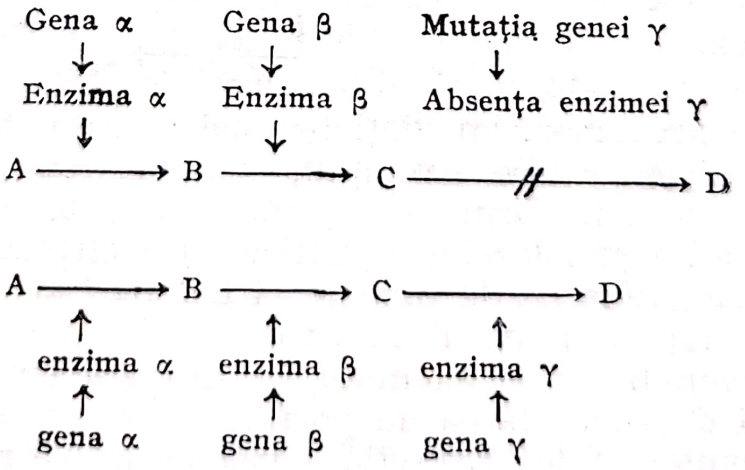
secundari se datorește utilizării exagerate a unor căi metabolice accesorii normale, care își amplifică activitatea numai în cazul blocajelor metabolice. Astfel, în fenilcetonurie blocarea hidroxilazei fenilalaninice duce, pe lîngă acumularea de fenilalanină, și la o importantă producție de acid fenilpiruvic și derivați fenilcetonici.

Dacă mutația genei γ duce la producerea unei enzime γ, diferită structural și funcțional de enzima normală, rezultă un produs D′:



Nu se cunosc exemple de acest gen în grupul bolilor ereditare.

În condiții obișnuite, heterozigotul și homozigotul pentru alela normală nu pot fi distinși unul de altul. Cantitatea de enzimă determinată de gena normală a heterozigotului este suficientă pentru a asigura transformarea întregii cantități de produs *A* disponibil. Există totuși două posibilități de a releva deficitul enzimatic cantitativ al heterozigotului, și anume prin determinarea directă a enzimei și cu ajutorul probelor de supraîncărcare. Dacă se efectuează o probă de supraîncărcare cu produs *A*, se constată la heterozigoți o acumulare a precursorilor reacției blocate:



Proba de supraîncărcare a depășit capacitatea funcțională a subiectului testat, cantitatea de enzimă formată de heterozigot fiind inferioară aceleia care este sintetizată de perechea de gene a homozigotului normal. Astfel de probe sînt semnificative numai dacă explorează un efect care este suficient de legat de acțiunea primară a genei. Altfel, valoarea lor este discutabilă.

Un exemplu demonstrativ în acest sens îl constituie utilizarea testului hiperglicemiei provocate pentru diagnosticul heterozigoților în familiile bolnavilor de diabet zaharat. Se știe că diabeticii au o reacție hiperglicemică anormal de crescută și prelungită. De asemenea, este adevărat că există mai mulți subiecți cu o curbă de hiperglicemie provocată, anormală, în familiile diabeticilor decît în cele ale martorilor. Dar această reacție nu este specifică diabetului zaharat, modificarea ei fiind întîlnită și în boli hepatice, musculare, tiroidiene, suprarenaliene etc. De aceea, este imprudentă și incorectă afirmația că o curbă de hiperglicemie provocată, anormală, caracterizează starea de heterozigot în diabetul zaharat.

Hemoglobinopatiile

Anemia drepanocitară (falciformă) se caracterizează prin producerea unei hemoglobine patologice (HbS). Heterozigoții cu această afecțiune pot fi depistați: la examenul lamelor de sînge, prin evidențierea unor anomalii morfologice (hematii în seceră), după reducerea tensiunii oxigenului (Sherman, 1940), cît și electroforetic, cînd se constată două spoturi, unul corespunzînd hemoglobinei adulte normale A (HbA) și celălalt, hemoglobinei drepanocitare S(HbS), ultima reprezentînd doar 20—40% (Singer, 1951).

În 1956, Ingram a demonstrat că hemoglobina patologică S se diferențiază de HbA printr-o singură modificare structurală, care constă în schimbarea secvenței aminoacizilor, și anume valina substituie acidul glutamic într-unul din lanțurile polipeptidice ale HbA. Ceilalți 279 de aminoacizi existenți în moleculele de HbA și HbS sînt identici ca structură și secvență.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetările lui Ingram au o mare valoare teoretică, deoarece relevă caracterul strict delimitat al acțiunii genei patologice.

Heterozigoții nu prezintă manifestări clinice în anemia drepanocitară, deoarece HbS patologică este inferioară cantitativ HbA normale.

Talasemia, boala Cooley sau anemia microcitară familială se datorește unei tulburări de sinteză a hemoglobinei normale (HbA), tradusă printr-o sinteză scăzută de HbA_1, o creștere de HbA_2 de la 2—3% la 3—5% și prin persistența hemoglobinei fetale (HbF).

La heterozigoții din familiile cu talasemie se observă destul de des modificări hematice caracteristice bolii, ca microcitoză, hematii în țintă, hipocromie etc. Electroforetic, HbA_1 nu este evidențiată decît la jumătate din heterozigoți. În schimb, creșterea netă a componentei minore HbA_2 se observă la peste 90% din heterozigoți (Gouttas, 1960).

Patologia coagulării. Schematic, coagularea sîngelui se desfășoară în trei etape. Prima este tromboplastinoformarea, care rezultă din interacțiunea unui precursor al protromboplastinei cu factorii antihemofilici și cu factorii complexului protrombinic. A doua etapă a coagulării sanguine este trombinoformarea, în care intervin protrombina, proconvertina, proaccelerina și factorul Stuart-Prower. A treia etapă este fibrinoformarea, în cursul căreia fibrinogenul inactiv este transformat în fibrină sub influența trombinei.

Fiecare din factorii coagulării se află sub controlul unei singure gene. Astfel, consecutiv unei singure mutații genice, este suprimată sinteza unui singur factor. Toate aceste afecțiuni, cu excepția hemofiliilor A și B, se transmit clinic recesiv autozomal, adică tulburările hemoragice apar la subiecți care sînt homozigoți pentru gena mutantă.

În deficitele de proaccelerină, proconvertină și factor Stuart-Prower s-a demonstrat, prin determinări cantitative, că activitatea heterozigoților este intermediară între aceea a subiecților normali și aceea a homozigoților recesivi, care este nulă sau foarte scăzută. Astfel, Quick, Pisciotta și Hussey (1955) au investigat biochimic heterozigoții aparținînd unei familii în care o fetiță, în vîrstă de 3 ani, avea un deficit de procon-

Scanned with OKEN Scanner

vertină. Bunicul, părinții și un frate au prezentat o moderată prelungire a timpului de protrombină.

Hougie, Barrow, Graham (1957) au găsit valori scăzute ale factorului Stuart-Prower la heterozigoți din familiile care aveau bolnavi cu această afecțiune.

În afibrinogenemie au fost găsite valori scăzute ale fibrinogenului la indivizii presupuși a fi heterozigoți. Graham (1956) consideră totuși că acest test nu este suficient de sensibil pentru depistarea heterozigoților respectivi.

În deficitul de protrombină, afecțiune cu totul excepțională, situația este probabil aceeași cu cea din bolile precedente (Frezal și Rey, 1964).

Hemofilia. Problema hemofiliei, care se transmite recesiv legat de sex, apare mai complexă decît restul patologiei coagulării. Cele mai multe lucrări au fost consacrate detectării heterozigoților în hemofilia A. Inițial s-a măsurat timpul de coagulare, apoi s-a studiat timpul de formare a tromboplastinei, iar recent s-a determinat activitatea globulinei antihemofilice (Rappaport, 1963). La surorile bolnavilor hemofilici, care au aprioric o șansă din două de a transmite mutația, probabilitatea de a deveni real transmițătoare este de 4/5 cînd activitatea factorului antihemofilic este sub 70%. Ea nu este decît de 1/5 cînd activitatea factorului antihemofilic depășește 80%. Așadar, există posibilitatea de a decela un anumit număr de femei transmițătoare ale hemofiliei în familiile copiilor afectați. Diferențele valorice între heterozigoți și subiecții normali sînt semnificative din punct de vedere statistic. Heterozigoții nu pot fi diagnosticați în toate formele de hemofilie. În varietatea cea mai severă, în care activitatea globulinei antihemofilice este nulă, heterozigoții nu pot fi diferențiați. În schimb, ei pot fi recunoscuți în forma benignă a hemofiliei, în care globulina antihemofilică are o activitate de 10—20% față de normal. În 1956, Graham încearcă să explice aceste date aparent paradoxale cu ajutorul fenomenului de *feed-back*.

În varietatea severă a hemofiliei, gena mutantă ar fi amorfă, adică nu ar induce sinteza globulinei antihemofilice. În varietatea benignă, gena mutantă ar produce sinteza unei molecule globulinice modificate structural, cu activitate antihemofilică slabă. Această moleculă globulinică, deși cu activi-

Scanned with OKEN Scanner

tate funcţională redusă, ar fi capabilă să blocheze sinteza ulterioară a globulinei. Astfel, oprirea sintezei ar depinde de numărul de molecule formate şi nicidecum de activitatea lor antihemofilică. La heterozigoţii pentru varietatea severă a hemofiliei nu ar exista decît globuline antihemofilice normale, sintetizate de singura genă activă, în timp ce heterozigoţii pentru varietatea benignă ar avea, în cantitate egală, un amestec de globulină antihemofilică normală şi de globulină de calitate deficitară, adică cu activitate antihemofilică diminuată.

De ce femeia heterozigot care are, ca şi bărbatul normal, o genă pentru producerea globulinei antihemofilice şi o genă mutantă inertă se comportă diferit în coagulare? Această problemă ar putea fi formulată şi altfel. De ce femeia homozigot normală, care are două gene pentru producerea acestei globuline antihemofilice, nu se deosebeşte de bărbatul normal, care nu are decît un singur cromozom X? Explicaţia acestui fenomen ar putea fi dată de teoria lui Lyon (1961) asupra cromozomilor sexuali. După această autoare la femeie din cei doi cromozomi X unul este heterocromatic şi nefuncţional, iar celălalt funcţional.

În spiritul acestei ipoteze, cantitatea de globulină antihemofilică care este formată de femeia homozigot nu ar fi superioară celei sintetizate de bărbat. În plus, se admite că numai hazardul decide dacă cromozomii nefuncţionali au origine paternă sau maternă. În medie, numărul de cromozomi de origine paternă şi maternă ar fi aproape acelaşi. La o femeie heterozigot hemofilic, numărul de cromozomi purtători ai genei mutante ar fi egal cu numărul cromozomilor purtători ai genei normale, care sînt nefuncţionali.

Faptul că starea heterozigotă nu este decelată în toate cazurile de hemofilie arată că această explicaţie este totuşi insuficientă, că mai există o serie de puncte neclare în problemele de genetică biochimică ale acestei boli.

Proteine şi enzime eritrocitare sau serice

O serie de modificări ale proteinelor serice sînt determinate genetic. Uneori aceste modificări intră în cadrul variaţiilor

Scanned with OKEN Scanner

normale, ca acelea care definesc tipurile de haptoglobină sau diferitele transferine. În aceste cazuri, heterozigoții pot fi ușor detectați prin electroforeză în gel de amidon. În schimb, în analbuminemie sau în agamaglobulinemia congenitală, heterozigoții nu pot fi detectați.

În degenerescența hepato-lenticulară, unde există un deficit de sinteză a ceruloplasminei, nu s-au găsit aceleași modificări biochimice la toți heterozigoții. La unii dintre ei s-a notat o scădere a ceruloplasminei serice (Scheinberg), în timp ce la alții ceruloplasmina a fost normală (Bickel). În 1959, Sternlieb studiază zece heterozigoți cu ceruloplasmina normală și găsește o încorporare mai redusă a cuprului radioactiv în ceruloplasmină față de indivizii normali.

Acatalazia este o boală ereditară foarte rară, care a fost descrisă în Japonia de Takahara (1952). Ea se manifestă prin leziuni inflamatorii ulcero-gangrenoase ale cavităților bucală și nazală. Examenul mucoaselor, al eritrocitelor, al măduvei osoase, al ficatului și al mușchilor pune în evidență lipsa catalazei, enzimă care descompune apa oxigenată. Acatalazia are o transmisie recesivă autozomală. În 1959, Nishimura a determinat catalaza sanguină la 66 de membri aparținînd la cinci familii în care existau asemenea cazuri. Activitatea enzimei a fost nulă la subiecții bolnavi, iar la heterozigoți (ambii părinți, unii frați și toți copiii bolnavilor) s-au constatat valori intermediare între normali și acatalazici. O tulburare enzimatică analogă, cu caractere genetice similare, a fost observată și la cîteva rase de cîini și cobai.

Hipofosfatazia este o boală ereditară recesivă, caracterizată prin leziuni osoase severe, asemănătoare rahitismului vitaminorezistent, prin valori extrem de scăzute ale fosfatazelor alcaline din sînge și printr-o eliminare urinară crescută de fosfoetanolamine. În 1957, Steinberg a constatat o scădere semnificativă a fosfatazelor alcaline la 70% din părinții bolnavilor și la 50% din frații acestora. Corelînd determinarea enzimatică cu excreția de fosfoetanolamine, Fraser ridică indicele de depistare a heterozigoților la părinți la 81%. De obicei, heterozigoții prezintă numai modificări biochimice, fără leziuni osoase.

Scanned with OKEN Scanner

Pseudocolinesteraza serică este cunoscută de mulți ani, fără ca rolul său fiziologic să fie bine precizat. Recent s-a dovedit că enzima inhibă acțiunea anumitor medicamente, între care suxametoniul și succinilcolina folosite în anestezie ca relaxanți musculari. În 1952, Bourne a relatat cinci cazuri de apnee prelungită din 546 de bolnavi cărora li se administrase succinilcolină. Studiul pseudocolinesterazelor la acești bolnavi a arătat o valoare medie mai mică decît jumătate din valoarea normală. Investigații asupra pseudocolinesterazei serice la rudele (părinți și copii) bolnavilor cu răspunsuri anormale (Forbat și colab., 1953) au arătat valori scăzute, sub normale. În 1957, Kalow și Genest au introdus o nouă metodă de studiu al acestei enzime, apreciind procentul de inhibiție al pseudocolinesterazei asupra benzoilcolinei produse de anesteziculocal dibucaina. În felul acesta s-au obținut trei modalități de răspuns, care reprezintă pe homozigoții normali, heterozigoții și homozigoții bolnavi. Prin diferite metode, inclusiv electroforeză, s-au diferențiat două pseudocolinesteraze, denumite tipică și atipică la homozigotul normal, față de una singură la homozigotul bolnav. La heterozigoți, cele două tipuri de pseudocolinesterază se găsesc în proporție egală. La unii homozigoți bolnavi s-a constatat absența oricărei activități pseudocolinesterazice. În această formă, heterozigoții nu diferă de homozigoții normali. Se poate face o analogie cu mecanismul hemofiliilor severe și benigne.

Blocaje metabolice

Galactozemia congenitală este o boală ereditară dismetabolică cu transmitere recesivă, caracterizată biochimic prin imposibilitatea de a transforma galactoza în glucoză, datorită unei deficiențe de galactoză-1-fosfat-uridiltransferază. Clinic, boala se manifestă prin întîrziere în dezvoltarea psihică, cataractă și hepatosplenomegalie. Pentru depistarea heterozigoților s-au utilizat diferite teste biochimice. Holzel și Komrower (1955) au urmărit proba toleranței la galactoză. Ei au găsit o toleranță patologică la unele rude, dar nu la ambii părinți. Este probabil că acest test să nu fie suficient de sensibil

pentru a permite concluzii exacte asupra modului de transmitere genetică în galactozemia congenitală. Studiul galactozo-1-fosfat-uridiltransferazei utilizat de Hsia la cinci familii de galactozemici a arătat o scădere a activității enzimei la heterozigoți. Kirkman și Bynum (1959) obțin rezultate similare. Toți cei 18 părinți de galactozemici studiați de autor au avut o activitate enzimatică subnormală. La 13 dintre cei 18 părinți scăderea valorilor enzimei a depășit două deviații standard. În felul acesta s-a confirmat că ambii părinți sînt heterozigoți.

Oxidarea galactozei-1-fosfat marcată cu ^{14}C în $^{14}CO_2$ de suspensie leucocitară sau de sînge integral a fost utilizată de Weinberg, Herring, Johnson și Field (1960) pentru cercetări genetice în galactozemie. Studiul s-a bazat pe observația că oxidarea galactozei de către eritrocite este stimulată de 10—20 de ori de un colorant electrono-acceptor, cum este albastrul de metilen în concentrație de $10^{-4}M$. S-a observat că hematiile părinților bolnavilor cu galactozemie prezintă o stimulare mai redusă la albastrul de metilen (numai de șase ori), în timp ce hematiile bolnavilor nu răspund la adăugarea colorantului. Aceste date sînt valoroase atît pentru depistarea heterozigoților, cît și pentru demonstrarea deficitului enzimatic complet în hematiile bolnavilor. Nu se știe pînă în prezent dacă heterozigoții au o cantitate redusă de enzimă normală structural sau dacă activitatea scăzută pe care o prezintă este rezultatul unui produs hibrid al genei care modifică calitativ enzima.

Fenilcetonuria este o afecțiune dismetabolică ereditară cu transmitere recesivă, caracterizată prin blocarea reacției de transformare a fenilalaninei în tirozină, datorită deficitului enzimei specifice fenilalaninhidroxilaza. Modificările cutanate și psihice (oligofrenia) sînt corelabile cu gradul de stocare al fenilalaninei. Astfel, pentru descoperirea heterozigoților s-au propus mai multe probe. Hsia a studiat proba de supraîncărcare cu L-fenilalanină și a găsit valori mai mari ale fenilalaninei plasmatice la heterozigoți decît la indivizii normali. În 1953, Jervis a determinat tirozina după administrarea unei doze de fenilalanină și a găsit valori mai mici la heterozigoți față de martori. De asemenea, excreția urinară a acidului

Scanned with OKEN Scanner

5-hidroxi-indolacetic este mai scăzută la heterozigoți decît la normali (Hsia, 1958, 1961). Nici una dintre metodele amintite nu este suficient de sensibilă pentru a asigura singură și, în mod constant, depistarea heterozigoților. Utilizarea lor asociată sporește mult posibilitățile diagnostice.

Hiperplazia congenitală a suprarenalelor (sindromul genito-suprarenal) este o afecțiune ereditară caracterizată prin tulburări în biosinteza hormonilor adrenocorticoizi. Se disting două forme biochimico-clinice:

1. Tulburarea de hidroxilare interesează C_{21} (scădere de steroizi 21-hidroxilați cu hiperfuncție secundară a hipofizei și exces de hormoni steroizi androgeni, responsabili de virilizarea excesivă a pacienților).

2. Tulburarea de hidroxilare interesează C_{11} (exces de 11-dezoxicorticosteroni, care generează hipertensiunea arterială, simptom major al acestei forme). Transmiterea bolii este recesivă autozomală. Ca atare, părinții sînt heterozigoți. Childs (1956) a constatat că stimularea prin ACTH crește în mod anormal excreția pregnanetriolului la părinții copiilor cu hiperplazie congenitală suprarenală.

Cistinuria este o boală ereditară recesivă, caracterizată prin excreția urinară crescută a patru aminoacizi: cistină, lizină, arginină și ornitină. Afecțiunea este relativ benignă, singura complicație fiind tendința la calculi urinari. După transmiterea ereditară, se disting două forme:

1. Cu transmitere recesivă, în care heterozigoții nu pot fi diferențiați de homozigoții normali.

2. Cu transmitere recesivă incompletă, la care heterozigoții au prezentat creșteri moderate ale excreției de cistină și lizină, dar cu eliminare normală de arginină și ornitină (Harris și colab., 1953, 1955).

Rahitismul vitamino-rezistent hipofosfatemic este o boală ereditară manifestată prin tulburări de metabolism ale fosfaților anorganici: valori sanguine scăzute și excreție urinară crescută. Leziunile osoase sînt secundare tulburărilor de metabolism fosfatic și nu sînt influențate de dozele uzuale de vitamina D.

În 1958, Winters a efectuat un studiu genealogic al unei colectivități cu această boală utilizînd ca indici paraclinici de-

Scanned with OKEN Scanner

terminarea fosforului anorganic sanguin și examenul radiografic al oaselor. În aprecierea transmiterii genetice, hipofosfatemia s-a dovedit cel mai valoros indice. Din cele 78 de persoane cu hipofosfatemie, numai 40 prezintă modificări scheletice. Hipofosfatemia a fost moștenită conform tipului dominant, fiecare persoană hipofosfatemică avînd numai unul din părinți cu aceeași modificare biochimică. Bărbații hipofosfatemici au avut aproape întotdeauna leziuni osoase profunde, pe cînd femeile hipofosfatemice au prezentat o afectare scheletică minimă. Relativa imunitate a femeilor pentru leziuni osoase indică transmiterea legată de sex și se explică prin faptul că alela normală contrabalansează parțial acțiunea genei patologice. Frații și surorile persoanelor hipofosfatemice au prezentat valori normale sau scăzute ale fosforului anorganic sanguin, în proporții aproximativ egale.

Idioția familială amaurotică este o tezaurismoză lipidică cu gangliozide stocate predominant la nivelul sistemului nervos central și care se caracterizează prin demență, orbire și paralizii. Transmiterea bolii este recesivă autozomală. În depistarea heterozigoților s-au folosit mai multe teste. Astfel, Teglbjaerg (1955) afirmă că în sîngele heterozigoților se observă limfocite vacuolizate.

În 1965, Ionășescu a constatat modificări ale lipidogramei și colesterolului la părinții a două cazuri de idioție familială amaurotică. Bessman și Baldwin (1962) au studiat trei familii în care se găseau cinci bolnavi de această afecțiune. Din cercetările lor reiese că atît bolnavii, cît și rudele lor apropiate prezintă aminoacidurie crescută pentru histidină, 1-metilhistidină, imidazol, carnosină și anserină. Această aminoacidurie pare să fie transmisă ca o trăsătură dominantă, în timp ce simptomele neurologice sînt transmise recesiv. Autorii consideră că aminoaciduria și degenerescența cerebrală reprezintă manifestări ale aceleiași gene patologice. Asocierea celor două trăsături a fost găsită la toate cele trei familii.

Boala Niemann-Pick este o tezaurismoză lipidică cu sfingomielină și transmisie recesivă autozomală. Depozitarea lipidică se face mai ales la nivelul sistemului reticulo-endotelial și se manifestă prin hepatosplenomegalie, întîrziere în dezvoltarea psihică și fizică, semne neurologice severe.

Scanned with OKEN Scanner

Depistarea heterozigoților în boala Niemann-Pick a fost urmărită de mai mulți autori. Astfel, Pfändler (1953) a examinat două familii cu această afecțiune. La o familie din care proveneau două cazuri cu forma adultă (confirmată necropsic) el a găsit hepatosplenomegalie la doi dintre frați. Alți membri ai aceleiași familii au prezentat o creștere a acizilor grași totali serici, dar colesterolul îl aveau normal. Același tip de modificare lipidică sanguină a fost observat și la heterozigoții aparținînd celei de-a doua familii. Crocker și Farber (1958) au constatat un aspect normal al măduvei osoase și al lipidelor serice la părinții a două cazuri de boala Niemann-Pick. Ca și Pfändler, autorii au semnalat existența hepatosplenomegaliei la trei heterozigoți. La unul dintre aceștia măduva osoasă și splina au prezentat celule patologice apropiate morfologic de celulele „spumoase". Examenul sîngelui periferic nu a evidențiat limfocite vacuolizate la heterozigoți.

La un caz studiat biochimic, Ionășescu, Voiculescu și Cătănoiu (1964) evidențiază celule „spumoase" în măduva osoasă a mamei bolnavului. Tatăl bolnavului nu a prezentat atare modificări.

Gargoilismul este o dublă tezaurismoză, cu mucopolizaharide la nivelul sistemului reticulo-endotelial și gangliozide la nivelul sistemului nervos central, tradusă clinic prin hepatosplenomegalie, cataractă, leziuni osoase, tulburări de creștere, oligofrenie. Teller și colab. (1961) au determinat execreția de mucopolizaharide urinare exprimată în acid hexuronic la heterozigoții din familiile cu gargoilism. Ei au găsit o eliminare crescută de mucopolizaharide la unul sau la ambii părinți, precum și la unele rude ale bolnavilor. Pe această bază, membrii de familie respectivi au fost considerați de autori ca transmițători ai bolii.

Distrofiile musculare progresive (DMP) prezintă trei tipuri de transmitere genetică corespunzătoare formelor clinice principale: recesivă legată de sex în forma Duchenne, dominantă autozomală în forma facio-scapulo-humerală și recesivă autozomală în forma centurilor. Între aceste forme clinice, cea mai frecventă și mai severă, cu debut precoce și evoluție rapidă, este forma Duchenne. Tulburările biochimice sînt mai net conturate față de celelalte forme.

Scanned with OKEN Scanner

Pe lîngă cazurile la care antecedentele eredocolaterale apar în mod concludent, există și numeroase cazuri izolate. Din punct de vedere genetic, clinic este practic imposibil să stabilim dacă boala a fost transmisă de o mamă heterozigotă sau dacă a intervenit o mutație genică. De aceea, detectarea biochimică a heterozigoților la mamele și surorile bolnavilor prezintă un deosebit interes. În acest sens, o mare importanță o are determinarea enzimelor serice — aldolaza și creatinfosfokinaza. Okinaka și colab. (1959) au fost primii care au constatat o creștere a creatinfosfokinazei la surorile bolnavilor cu distrofie Duchenne. În 1960, Chung, Morton și Peters au consemnat o creștere a aldolazei serice la trei din cele 21 de mame ai căror copii prezentau această distrofie. Schapira și colab. (1960), urmărind sistematic aldolaza și creatinfosfokinaza la 87 de mame de copii cu distrofie Duchenne, au găsit creșteri enzimatice la 27 dintre ele. Numărul anomaliilor enzimatice a fost mai mare (15 din 57) la mamele pacienților cu forme familiale decît la mamele bolnavilor cu forme sporadice ale bolii (12 din 50). Ionășescu și Luca (1964), urmărind modificările aldolazei serice în familiile bolnavilor cu DMP, au găsit o creștere a aldolazei la 50% dintre mamele copiilor cu distrofie Duchenne.

În 1963, Pearson a efectuat biopsii la surorile bolnavilor cu DMP care prezentau o creștere a creatinfosfokinazei. La unele cazuri autorul a constatat modificări anatomopatologice focale de tip distrofic. După Pearson, distrofia Duchenne se întîlnește la ambele sexe în proporții aproape egale, dar manifestările clinice sînt evidente numai la bolnavii de sex masculin.

Monomerie și pleiotropism. În spiritul geneticii clasice se presupune că o genă poate determina un singur caracter (monomerie) sau mai multe (pleiotropism). Faptele experimentale care au dus la ipoteza că unele gene au efecte multiple păreau concludente. Astfel, la șoareci, o mutație în sinteza pigmentului melanic duce la albinism. Animalele cu această mutație prezintă, pe lîngă decolorarea blănii, o accentuată sensibilitate la infecții și un psihic foarte dezvoltat. Aceste trei caractere distincte păreau condiționate de o singură mutație, deoarece apăreau întotdeauna împreună. În sfîrșit, pentru a mai cita un singur exemplu din genetica animală, Grüneberg a remarcat

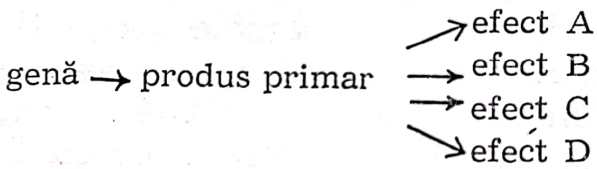
Scanned with OKEN Scanner

că mutația „ch" determină la șoareci hidrocefalie și numeroase malformații scheletice.

La om, numărul mutațiilor cu efecte pleiotropice este aparent foarte mare. Sindromul Lobstein, de pildă, caracterizat printr-o accentuată fragilitate osoasă, sclerotice albastre și surditate, a fost atribuit unei singure mutații genice. Sindromul Marfan, sindrom care se distinge prin malformații osoase, cardiace și oculare, pare să aibă o origine similară.

Pleiotropismul ca atare nu poate fi explicat de pe pozițiile geneticii clasice, deoarece este greu de înțeles cum o singură mutație poate afecta în același timp organe și tesuturi cu origini total diferite.

Pentru a explica acest fenomen, s-a pornit de la ideea că anomalia primară este enzimatică, iar tulburările clinice sînt secundare:



În cazul cretinismului, de pildă, mutația poate afecta o singură etapă din biosinteza hormonilor tiroidieni. În absența acestor hormoni apar numeroase tulburări.

S-ar putea să existe și alte mecanisme care să explice pleiotropismul, cum ar fi tulburarea enzimatică primară, care poate să suprime sinteza altor enzime sau produsul anormal consecutiv mutației, care poate să inhibe producția altor enzime.

Mozaicurile fiziologice

Prin mozaic se înțelege existența a două caractere diferite determinate de gene proprii. Mozaicurile biochimice sau fenotipice se întîlnesc frecvent în lumea vie. De pildă, se cunosc șoricioaice a căror blană este formată din zone albe și zone mutante, răspîndite cu totul întîmplător. De asemenea, s-au descris pisici a căror blană prezintă un amestec de pete galbene și negre.

La om asemenea fenomene se întîlnesc destul de des. Astfel, o eroare înnăscută de metabolism, determinată de o mutație pe un cromozom X, antrenează apariția albinismului ocular. Deoarece mutația este recesivă, tulburarea apare în mod obișnuit la bărbați. Avînd doi gonozomi, femeile sînt heterozigote. Retina lor este formată din zone pigmentate și din zone nepigmentate.

Toate exemplele citate sînt întîlnite numai la femei și par să fie determinate de linii celulare cu cromozomi X diferiți — unul cu alela normală și celălalt cu alela mutantă. Teoretic se poate presupune că în toate celulele o dată cu mutația apare și tulburarea specifică pe care aceasta o condiționează. Problemele care se ridică în acest caz sînt: de ce răspîndirea celulelor anormale are caracter întîmplător și din ce cauză tulburările apar numai la bărbați? Explicația a fost dată de cercetările de citogenetică.

Ipoteza cea mai simplă și în același timp cea mai seducătoare era că dintre cei doi cromozomi X pe care îi are o femeie, numai unul este activ și necesar organismului. Celălalt este inactiv și heteropicnotic. Pentru apariția mozaicului este necesar ca în organism să existe celule și organe care să poarte întîmplător cromozomi activi, fie cromozomul cu alela normală, fie cromozomul cu alela mutantă. Intensitatea tulburărilor în cazul unei mutații ar depinde de răspîndirea celulelor anormale. Într-adevăr, această ipoteză a fost demonstrată (Lyon). Femelele de șoareci cu XO (lipsite de un cromozom X) sînt fertile. Deci un singur cromozom X este suficient.

La om, un asemenea cariotip antrenează însă disgenezia gonadală și multiple malformații scheletice. Ceilalți cromozomi X devin heteropicnotici. Ei sînt vizibili sub forma unui mic corpuscul lipit de fața internă a membranei nucleare. Inactivarea unui gonozom X are loc în primele zile ale embriogenezei. S-a demonstrat astfel că, începînd din ziua a 18-a, corpusculii sexuali sînt bine diferențiați. Probabil însă că inactivarea începe o dată cu diviziunea oului. Atunci devin inactivi toți cromozomii X care depășesc nevoile organismului, unul sau mai mulți în cazul anomaliilor cromozomiale. La superfemele, femei cu trei cromozomi X, se văd doi corpusculi cromatinieni, iar la bărbații cu sindrom Klinefelter, cu cariotip

Scanned with OKEN Scanner

XXY, cromatina sexuală este pozitivă. Cu totul excepțional se întîlnesc însă și femei cu cariotip XO, dar cu cromatina pozitivă, fapt care sprijină ipoteza lui Lyon.

Cercetările de biochimie au adus confirmarea deplină a acestui fenomen de o deosebită importanță pentru înțelegerea mozaicurilor. De pildă, Beutler a studiat cantitatea de glucoză 6-fosfat-dehidrogenază, o enzimă controlată de o genă situată pe un cromozom X. Dacă nu ar exista inactivarea tuturor cromozomilor inutili organismului, atunci bărbații cu un singur cromozom X ar trebui să aibă numai 50% din cantitatea de enzimă pe care o au femeile. De asemenea, indivizii cu gonozomi X suplimentari ar trebui să aibă cantități direct proporționale cu numărul de cromozomi. Or, s-a constatat că femeile normale și bărbații hemizigoți normali au în globulele roșii aceeași cantitate de enzimă. Mai mult, s-a remarcat că la purtătorii de anomalii cromozomiale se întîlnește aceeași cantitate ca la indivizii cu cariotip normal. Dar dacă ipoteza este corectă, atunci femeile heterozigote purtătoare ale unei mutații care reduce activitatea enzimei la jumătate trebuie să aibă două feluri de celule — celule cu gena mutantă și inactive, și celule în care X este activ și produc enzima. Într-adevăr, s-a demonstrat că aceste femei au două populații de celule și că fenomenul se întîmplă așa cum a fost dedus teoretic.

Așa se pot explica multe aspecte neclare în genetica medicală. Se poate presupune, de pildă, că marea variabilitate individuală a bolilor determinate de mutații pe cromozomul X este o rezultantă a difuziunii întîmplătoare a diferitelor linii de celule în organism. Rămîne de lămurit dacă există un proces de inactivare autozomală. El a fost admis pe principii teoretice, dar probele directe lipsesc.

După toate probabilitățile însă inactivarea se limitează doar la gonozomii X și constituie, după cîte se crede, o metodă de compensare a dozajului genic. În comparație cu bărbatul, femeia posedă — prin cei doi X — un surplus de material genic și acest surplus ar putea avea efecte nocive. Cromozomul Y are puține gene, așa că poate fi considerat aproape inactiv. Astfel, cele două sexe au aceeași cantitate de material genetic.

Dacă este adevărat că excesul de cromozomi X are efecte nocive, atunci ar trebui ca printre embrionii avortați în pri-

Scanned with OKEN Scanner

mele 2—3 luni de sarcină să predomine femeile. Există indicații că acest fenomen este real. Aceasta ar fi o consecință a tulburărilor apărute în cursul primelor zile de viață ale zigotului, cînd are loc inactivitatea gonozomială. Stabilizarea embrionului femel ar avea loc după primele două săptămîni, cînd procesul de inactivitate s-a terminat. Evident, dacă ipoteza este reală, atunci printre embrionii avortați ar trebui să existe un număr crescut de embrioni cu anomalii cromozomiale XXX sau XXY sau XXXY. Este un aspect care încă nu a fost verificat.

BIBLIOGRAFIE

Allison, A. C., B. I. Blumberg, „Am. J. Med." XXV, 6, 1958, 993.

Bateson, W., E. R. Saunders, „Reports to the Evolution commitee Royal Society of London", 1920, 160.

Baur, E., Einführung in die experimentelle Verrebungslehre, Borntraeger, Berlin, 1911.

Bessman, S. P., Baldwin R., „Science", 135, 1962, 789.

Bickel, H., F. C. Neale, G. Hall, „Quarterly Journal Med." (New Series) 26, 1957, 527.

Bourne, J. G., H. D. Collier, G. F. Somers, „Lancet", 1, 1952, 1225.

Childs, B., J. of. Clinical Investigation 35, 1956, 213.

Chung, C. S., N. E. Morton, H. A. Peters, „Am. J. Hum. Genet.", 12, 1960, 52.

Debré, R., J. Cl. Dreyfus, J. Frézal, D. Labie, M. Lamy, P. Maroteaux, F. Schapira, G. Schapira, „Ann. of Human Genetics", 23, 1958, 16.

Dische, F. E., V. Benfield, „Acta Haematologica", 21, 1959, 257.

Dobzhansky, Th., A. M. Holtz, „Genetica", 28, 1943, 295.

Fischer, R. A. *The Genetical theory of Natural Selection*, Clarendon Press, Oxford, 1930.

Falls, H. F., „Am. J. of Ophtalmology", 34, 1951, 41.

Forbat, A., H. Lehmann, E. Silk, „Lancet", 2, 1953, 1067.

Fraser, D., „Am. J. Med.", 22, 1957, 730.

Scanned with OKEN Scanner

Frézal, J., J. Rey, „Revue française d'Études Cliniques et Biologiques", 7, 1962, 196.
Goldschmidt, R., *Theoretical Genetics*, Univ. California Press, Berkeley — Los Angeles, 1955.
Gouttas, A., „Proceedings of 7-th European Congress of Hematology", Londra, 1959.
Grüneberg, H., „Proc. Roy. Soc.", Londra, 125, 1938, 123.
Hadorn, E., „Cold Spring Harbor Symp. in Quant. Biol.", 21, 1956, 563, 373.
Haldane, J. B. S., „Proc. Cambridge Phil. Soc.", 23, 1924, 19.
Harris, H., F. L. Warren, „Annals of Eugenics", 18, 1953, 125.
Harris, H., U. Mittwoch, E. B. Robson, F. L. Warren, „Ann. of Human Genetics", 20, 1955, 57.
Hersch, A. H., „J. Expl. Zool.", 57, 1930, 283.
Holzel, A., G. M. Komrower, „Archives of Diseases of Childhood", 30, 1955, 155.
Hulse, F., „Am. J. Physic. Anthr.", 2, 1960.
Hougie, C., E. M. Barrow, J. B. Graham, „J. of Clinical Investigation", 36, 1957, 485.
Hsia, D. Y., K. Driscoll, W. Troll, W. E. Knox, „Nature", 178, 1956, 1239.
Hsia, D. Y., J. Huang, I. G. Driscoll, „Nature", 182, 1958, 1389.
Ingram, V. M., „Nature", 178, 1956, 792.
Ionășescu, V., N. Luca, „Jurnal Nevropatologhii i Psihiatri imeni Korsakova", nr. 64, 1964, 822.
Ionășescu, V., C. Marinchescu, O. Costiner, N. Luca, „Neurologia, psihiatria și neurochirurgia", București, 1965 (sub tipar).
Jervis, G. A., „Proceedings of Society for Experimental Biology and Médicine", 82, 1953, 514.
Kalow, W., K. Genest, „Canadian Journal of Biochemistry", 35, 1957, 339.
Kirkman, H. N. E. Bynum, „Ann. of Human Genetics", 23, 1959, 117.
Knox, E., E. Messinger, „Am. J. of Human Genetics", 10, 1958, 53.
Landing, B. H., „Met. Clin. Exp.", IX, 3, 1960, 198.
Lasker, G. W., „Am. J. Physic. Anthr.", 4, 1946, 173.
Lyon, M., „Nature", 190, 1961, 332.

Scanned with OKEN Scanner

Mc. Nutt, W., „J. of Heredity", 45, 1954, 235.
Mohr, O., L. Wriedt, „Carnegie Institute Washington D. C. Publication", 1, 295, 1919, 64.
Neale, F. C., Fischer Williams, „J. of. Clinical Pathology", 2, 1958, 441.
Nishimura, E. T., H. B. Hamilton, T. Y. Kobara, S. Takahara, Y. Ogura, K. Doi, „Science", 130, 1959, 333.
Pearson, C. M., „Am. J. Med.", 35, 1963, 632.
Pfändler, U., „Helvetica Medica Acta", 20, 1953, 216.
Shapiro, H. S., *Migration and Environment.* A study of the physical characteristics of the Japanese immigrants to Hawai and the effect of environment on their descendents, Oxford, Univ. Press, Londra, 1939.
Roos, J., C. van Arkel, M. C. Verloop, F. L. J. Jordan, „Thromb. Diath. Haem, 3, 1959, 59.
Sass—Kortsak, A., K. M. Cherniak, D. W. Geiger, R. J. Slater, „J. of Clinical Investigation", 38, 1959, 1672.
Schapira, F., J. C. Dreyfus, G. Schapira, J. Demos, „Revue française d'Etudes Cliniques et Biologiques", 5, 1960, 990.
Sherman, I. J., „Buletin of John Hopkins Hospital", 67, 1940, 30.
Singer, K., A. L. Chernoff, L. Singer, „Blood", 6, 1951, 413.
Snyder, L. F., C. A. Doan, „J. Lab. Clin. Med.", 29, 1944, 1211.
Spiegel, A. M., H. W. Baird, D. Hollias, E. G. Szekeli, „Am. J. of Diseases of Children", 97, 1959, 676.
Sternilieb, I., A. G. Morell, I. H. Scheinberg, „J. of Clinical Investigation", 38, 1959, 1046.
Takahara, S., „Lancet", 2, 1952, 1101.
Teglbjaerg, H. P. S., C. M. Plum, „Acta Psyhiatrica Neurologica Scandinavica", 30, 1955, 327.
Teller, W. N., J. W. Rosevear, E. C. Burke, „Proceedings of Society for Experimental Medicine and Biology", 108, 276, 1961.
Voiculescu, V. M. Catanoiu, „Pediatria", 1965 (sub tipar).
Voss, D., B. A. Waaler, „Thromb. Diath. Haem.", 3, 1959, 375.
Weinberg, A. N., B. Herring, P. Johnson, J. B. Field, „Clinical Research" 8, 1960, 27.
Winters, R. W. J. B. Graham, T. F. Williams, V. W. Mc. Falls, C. H. Burnett, „Medicine", 37, 1958, 97.

Scanned with OKEN Scanner

8

Ereditatea și mediul

La începutul secolului al XX-lea se credea că una dintre cele mai complicate probleme pe care genetica trebuie să o rezolve este aceea de a stabili care caractere se datoresc eredității și care mediului. Foarte curînd însă a devenit clar că problema nu fusese bine formulată. Era necesar să se studieze în ce măsură un caracter are o origine ereditară și în ce măsură se datorește mediului.

Datorită numeroaselor cercetări de genetică experimentală efectuate în cursul primelor decenii ale secolului nostru, s-a ajuns la concluzia că o genă nu determină un anumit caracter, ci doar o anumită normă de reacție la mediu. În felul acesta s-a putut stabili că norma de reacție constituie limitele în care poate oscila un anumit caracter. Evident, fiecare individ are o normă de reacție proprie. Unii au limite foarte mari, alții, foarte mici. În mediu sînt incluse toate condițiile care influențează dezvoltarea unui caracter dat, adică atît factorii externi (condițiile geografice, temperatura sau alimentația), cît și factorii interni (poziția pe care o ocupă o genă în cromozom, influența exercitată de diverse gene asupra unei gene particulare etc.).

Interacțiunea dintre organism și mediu este ilustrată de numeroase exemple. Astfel, în 1911, Baur arată pentru prima oară că la *Primula sinesis rubra* culoarea florilor depinde de temperatura mediului ambiant. Dacă planta este cultivată într-o regiune cu temperatura de 20°, florile vor fi roșii. Într-o atmosferă mai caldă, de circa 30°, ele vor avea culoarea albă. Cînd o plantă cu flori roșii este mutată într-un mediu mai cald, bobocii dau flori albe. Fenomenul invers se remarcă atunci cînd plantele, după ce au început să înflorească, sînt mutate într-o atmosferă mai rece.

Bonnier a observat un alt fapt important, și anume că aceeași plantă se dezvoltă diferit la munte și la cîmpie. În acest caz geno-

Scanned with OKEN Scanner

tipul rămîne nemodificat, deoarece schimbarea condiţiilor climatice este suficientă pentru a induce transformarea plantei.

Aşadar, planta are posibilitatea de a răspunde diferit condiţiilor de mediu în care se dezvoltă. Baur a subliniat importanţa excepţională a acestui fenomen fundamental în biologie în modul următor: se moşteneşte întotdeauna numai un mod particular de reacţie la condiţiile de mediu şi ceea ce vedem ca trăsături exterioare nu sînt decît rezultatul acestei reacţii la condiţiile întîmplătoare de mediu în care individul se dezvoltă. Fenomenul este universal.

În 1919, Morgan a observat că la drosofilă mutaţia dominantă legată de sex, abdomen anormal, care alterează forma şi dispoziţia benzilor negre ce se găsesc în mod normal pe abdomen, se manifestă numai în anumite condiţii de mediu. Aşa, de pildă, dacă drosofilele sînt crescute într-un mediu umed, anomalia atinge maximum de expresivitate. Pe măsură ce mediul nutritiv devine mai uscat şi mai sărac, caracterul respectiv se apropie de normal. Dacă de la început mediul este uscat şi sărac, drosofilele vor avea ornamentaţie abdominală normală.

Ceva mai tîrziu, în 1930, Hersch remarcă faptul că mutaţia Barr, mutaţie care antrenează o modificare a numărului de faţete oculare, se manifestă diferit, în funcţie de temperatura ambiantă. În mod obişnuit, ochiul drosofilei are 800 de faţete. La drosofilele cu mutaţia Barr numărul faţetelor scade la 214 cînd temperatura este de 15°, la 122 cînd temperatura atinge 20° şi la 40, cînd temperatura creşte la 30°.

Alte cercetări au arătat că fenomenul este mult mai complex, toate au subliniat însă importanţa mediului.

La fel de demonstrative sînt vechile cercetări ale lui Kaufman întreprinse în 1925. Ea a constatat că iepurii de Himalaya crescuţi la temperatura de 30° sînt complet albi. Dacă animalele tinere sînt tunse, culoarea ulterioară a blănii va fi condiţionată de temperatura ambiantă. În cazul în care temperatura coboară la 25°, extremităţile, urechile şi botul vor fi negre.

Există, de asemenea, numeroase exemple care demonstrează că dezvoltarea caracterelor umane normale este influenţată

Scanned with OKEN Scanner

de mediul exterior. Primele observații în acest sens au fost efectuate de Boas la începutul acestui secol asupra evreilor europeni emigrați în America. El a studiat indicele cefalic al acestora, precum și cel al descendenților lor născuți în America și a observat că există diferențe între părinți și copii. Aceste fapte i-au permis să afirme că mediul poate influența dezvoltarea caracterelor antropologice.

Ceva mai tîrziu, Iyenaga și Sato au remarcat că copiii japonezi născuți în America sînt mai înalți decît copiii de aceeași vîrstă născuți în Japonia. Suski a constatat că, paralel cu talia, la copiii japonezi născuți în America se modifică atît greutatea, cît și circumferința toracică sau lungimea relativă a picioarelor.

Cercetări asemănătoare a întreprins în 1939 și Shapiro. Urmărind circa 2 500 de indivizi emigrați în Haway, precum și pe descendenții lor pe care i-a comparat cu rudele familiilor cercetate rămase în Japonia, el a remarcat că nu se modifică numai caracterele considerate în general nutrilabile, ca talia și greutatea, ci și lățimea capului, înălțimea feței și lățimea nasului, caractere care în general sînt stabile sau relativ stabile față de influența mediului.

În 1946, Lasker a remarcat că la chinezii emigrați în America dimensiunile capului suferă modificări importante.

Procesul nu cunoaște deosebiri rasiale. Explicațiile care pot fi aduse sînt multiple. Se modifică alimentația, clima sau tipurile de căsătorie. Hulse, de pildă, crede că modificarea indicelui cranian întîlnit la copiii elveților emigrați în America pare să fie un efect al heterosisului.

Studiul normei de reacție sau al rangului de reacție se face deocamdată numai fenotipic. Substratul biochimic al acestui fenomen nu se cunoaște.

Alte observații au arătat că și manifestările bolilor ereditare sînt influențate de mediu. Astfel, Neel și Schull dau ca exemplu boala pielii numită xeroderma pigmentosum, boală determinată de o mutație recesivă. Atît timp cît indivizii respectivi evită soarele, boala nu se manifestă. De îndată însă ce aceștia sînt expuși razelor solare, pielea lor se umple de erupții caracteristice.

Scanned with OKEN Scanner

Un alt exemplu îl constituie gușa, care apare de obicei în regiunile unde iodul se găsește în cantități insuficiente. În dezvoltarea acestei tulburări ereditatea nu pare să aibă o importanță prea mare. S-au descris totuși indivizi la care, în urma unei mutații, una dintre enzimele necesare metabolismului hormonilor tiroidieni era deficientă. Atît timp cît în mediul înconjurător se găsește o cantitate suficientă de iod, tiroida poate funcționa normal chiar și cu jumătate din cantitatea normală de enzime. Dacă întîmplător indivizii heterozigoți se mută în regiuni unde iodul se găsește în cantități mai mici, atunci glanda tiroidă se mărește pentru a putea face față nevoilor organismului, dînd tulburări mai mult sau mai puțin importante.

Se știe, de asemenea, că unele tulburări enzimatice ereditare se manifestă clinic numai dacă intervine acțiunea cu totul specifică a mediului. Așa, de pildă, boala lui Wilson se datorește incapacității organismului de a sintetiza o cantitate normală de ceruloplasmină, o substanță ce se găsește în plasmă. În acest caz, cuprul din alimentație este depozitat în diverse organe, mai ales în creier, ficat, rinichi. Datorită acestor depuneri apar manifestările clinice. Cele mai demonstrative exemple le-a adus însă farmacogenetica. S-a arătat mai înainte că medicamentele sînt transformate în organism cu ajutorul enzimelor. Sinteza acestor biocatalizatori are o bază genetică. Așa se explică de ce în unele cazuri enzimele necesare transformărilor din organism lipsesc sau se găsesc în cantități insuficiente. În asemenea împrejurări, relativ rare, medicamentele pot avea efecte brutale sau chiar mortale. Alteori medicamentele pot agrava boli latente sau pot favoriza apariția unor boli necunoscute.

Aceste exemple oglindesc importanța pe care o are mediul extern în apariția și dezvoltarea caracterelor normale și patologice. La fel de important este și mediul intern. Numeroase cercetări experimentale au arătat că fiecare caracter este deseori rezultatul interacțiunii genice.

S-a observat de nenumărate ori că o genă dominantă se poate transmite din generație în generație, fiecare afectat fiind născut dintr-un părinte afectat. Este dominanța regulată. S-au citat însă numeroase observații în care caracterul sare o

Scanned with OKEN Scanner

generație. Deoarece ascendenții și descendenții persoanei respective sînt afectați, se presupune că persoana a transmis gena fără să manifeste vreunul dintre efectele ei. În aceste cazuri, dominanța este neregulată.

Așadar, prezența sau absența efectelor unei gene pot fi privite și sub raport cantitativ. Pentru a exprima acest aspect, Timofeev Resowsky a introdus termenul de penetranță, prin care se înțelege frecvența efectelor unei gene la nivel fenotipic. Se vorbește astfel de penetranță completă sau incompletă, după intensitatea manifestărilor genei.

Prezența unei gene poate fi analizată și prin diversitatea transformărilor pe care le determină. Astfel, ectrodactilia, caracterizată prin absența unuia sau mai multor degete, este condiționată de o genă dominantă cu penetranță mare. Cercetarea familiilor afectate a arătat însă că mutația antrenează o mare diversitate de forme, de la o simplă sindactilie, pînă la reducerea mîinii la numai două degete. Această variabilitate a fost numită expresivitate. Ea reflectă gradul de realizare a unui caracter.

În genetica experimentală se cunosc numeroase mutații cu penetranță mare sau mică. Explicația lor este destul de dificilă. Se presupune că primele ar fi condiționate uneori de mutația unei singure gene. Efectele acestora vor fi întotdeauna aceleași dacă condițiile mezologice sînt asemănătoare.

Mutațiile cu penetranță mică ar fi rezultatul cooperării mai multor mutații în locuri diferite, dar situate în același cromozom sau în cromozomi diferiți, fiecare mutație contribuind la realizarea caracterului. Efectul lor este aditiv.

Penetranța ar mai putea fi condiționată de prezența sau absența genelor modificatoare sau de temperatura la care sînt crescute animalele.

De obicei, mutațiile cu penetranță incompletă au și expresivitate variabilă. Această observație a dus la ipoteza că factorii care influențează penetranța pot influența și expresivitatea.

Pornind de la concluziile lui Mendel, geneticienii din primele decenii ale secolului al XX-lea admiteau că o genă specifică își manifestă efectele independent de celelalte gene. Dar această presupunere nu s-a dovedit a fi întemeiată.

Scanned with OKEN Scanner

De foarte multe ori genele cooperează, fiecare genă contribuind la realizarea unei anumite părţi dintr-un caracter. Acest gen de cooperare a fost denumit *interacţiune reciprocă.*

Interacţiunea reciprocă este variată. Uneori o genă modifică acţiunea altei gene nealele (genă modificatoare) întărindu-i efectele (genă amplificatoare) sau reducîndu-i-le (genă reducătoare). Influenţa reducătorilor poate fi în unele cazuri atît de accentuată, încît gena asupra căreia îşi manifestă acţiunea este suprimată. Asemenea gene se numesc inhibitoare.

Exemple de gene modificatoare se întîlnesc în număr mare la animale. Astfel, în 1954, Mac Nutt a studiat la şoareci o mutaţie recesivă autozomală *short ears*, care în stare homozigotă antrenează scurtarea urechii, precum şi numeroase malformaţii scheletice, printre care absenţa tuberculului anterior al celei de-a VI-a vertebre cervicale. El a remarcat însă că absenţa tuberculului nu este constantă, în unele suşe de animale transmiţîndu-se dominant, în altele recesiv, iar în altele nici dominant, nici recesiv. Singura explicaţie ar fi că apariţia anomaliei este influenţată de contextul genetic în care mutaţia *short ears* acţionează.

La om se cunosc multe exemple de gene modificatoare. Cele mai demonstrative privesc grupele sanguine. Cu ani în urmă, Schiff şi Sasaki au arătat că antigenele A şi B apar în salivă numai în prezenţa unei gene secretoare. Absenţa antigenului B şi O în salivă şi în globulele roşii este condiţionată de o genă X, care apare numai la anumite persoane, iar absenţa antigenului A în globulele roşii şi în salivă este determinată de o genă Y.

Anemia cu celule falciforme apare numai la homozigoţii pentru hemoglobina S. Heterozigoţii se comportă aproape normal. Dacă însă aceşti heterozigoţi au şi gena pentru talasemie, care nu este o alelă a hemoglobinei S, atunci alela pentru hemoglobina S se comportă dominant în starea heterozigotă.

Alteori acţiunea unei gene este controlată de sex. Nu ştim însă exact ce se înţelege prin acest fenomen. Probabil, o structură hormonală particulară. Oricum, există tulburări caracteristice unui sex sau altul, precum şi boli care sînt mai frecvente la un sex decît la celălalt. Aşa este, de pildă, calviţia

Scanned with OKEN Scanner

precoce, aproape necunoscută la femei, sau guşa care apare de aproape zece ori mai des la femei decît la bărbaţi.

Alelia multiplă. Se ştie că o genă ocupă un locus specific pe un anumit cromozom. Deoarece fiecare individ posedă doi cromozomi omologi, el va avea pe acelaşi locus două gene (alele). Cele două alele pot avea structuri şi funcţii asemănătoare (homozigoţie) sau diferite (heterozigoţie).

Gena de pe un locus dat poate suferi mutaţii mai mult sau mai puţin diferite de „forma sălbatică". Astfel, pe acelaşi locus se vor găsi într-o populaţie oarecare mai multe alele. Acest fenomen poartă numele de alelie multiplă. Genele din această serie afectează aceleaşi regiuni ale organismului şi aceleaşi funcţii. Ele se deosebesc de alela sălbatică prin efecte fenotipice diferite cantitativ şi calitativ. Atunci cînd seria alelică este relativ mare, efectele alelelor sînt gradate.

Alelia multiplă a fost descrisă şi la plante, şi la animale. La drosofilă s-au studiat o serie de alele care condiţionează culoarea ochilor: roşie (R), corai (w^{co}), de culoarea sîngelui (w^{bl}), a cireşei (w^{c}), a caisei (w^{a}), eozin (w^{e}), ivoar (w^{i}), galbenă-roşie (w^{t}), galbenă-roz (w^{b}), ecru (w^{ec}), albă (w).

S-a constatat cu această ocazie că culoarea roşie este dominantă, faţă de toate celelalte, iar cea albă, recesivă. Alelele care condiţionează o pigmentaţie mai puternică sînt dominante faţă de cele care condiţionează o pigmentaţie mai slabă. S-a descris o serie de şase alele care controlează pigmentaţia la iepure.

ALELIE MULTIPLĂ LA IEPURE

Numele alelei	Efecte asupra pigmentaţiei blănii	Efecte asupra culorii ochiului
C	culoare normală	închisă
C^{ch3} (şinşila)	uşoară decolorare	închisă
C^{ch2} (şinşila 2)	decolorare moderată	deschisă
C^{ch1} (şinşila 1)	decolorare marcată	foarte deschisă
C^{H} (Himalaya)	se observă numai pete pigmentare la extremităţi	fără pigment
c (albinos)	pigmentaţie absentă	fără pigment

O serie albinos cu cinci alele a fost descrisă la cobai și o altă serie la șoareci.

Diferite cercetări de genetică au descoperit, de asemenea, existența unei serii de alele care controlează distribuția pigmentului, ca de exemplu seria *agouti* la iepure.

La om au fost descrise mai multe serii alelice. Cel mai cunoscut exemplu îl constituie, așa cum s-a arătat mai înainte, grupele sanguine. Se știe că la om se pot detecta fenotipic următoarele grupe sanguine: O, A, B și AB. Grupa A este constituită din mai multe subgrupe: A_1, A_2, A_3, A_4, A_5.

A și B se exprimă în stare heterozigotă. Acesta nu este un fenomen obișnuit în alelia multiplă.

După toate probabilitățile, se pare că sistemul Rh, cunoscut prin marea lui valoare clinică, este format din șase sublocusuri, fiecare sublocus avînd mai multe stări alternative:

Sublocus D — D, D^u, d^a;

Sublocus C — C^u, C^v, C, C^x, c, c^v, c^a;

Sublocus E — E^w, e, e^a.

Alelele de pe celelalte sublocusuri posibile (f, V și G) nu sînt binecunoscute. Hemoglobinele anormale formează și ele o serie alelică.

Scanned with OKEN Scanner

9

Gemelologia

Din cele arătate în paginile anterioare rezultă că mediul intervine constant în realizarea tuturor caracterelor normale și patologice. Totuși, fenomenele trebuie analizate mai adînc, pentru a găsi criterii obiective de diferențiere a rolului eredității și a rolului mediului.

În vederea rezolvării acestei probleme, în 1885, Galton propune studierea gemenilor. Începînd din acest an, în literatura anglo-americană studiul interacțiunii ereditate-mediu este intitulat *Nature and Nurture*.

Propunerea lui Galton a fost însă neînțeleasă și, firește, neutilizată, deoarece la sfîrșitul secolului al XIX-lea lucrările lui Mendel erau încă necunoscute, studiul eredității reducîndu-se la relatarea cazurilor ereditare care păreau spectaculoase. Au trebuit să treacă mai bine de 30 de ani pînă cînd studiul gemenilor să devină una dintre cele mai folosite metode ale geneticii umane.

Cercetările asupra diagnosticului polisimptomatic — element esențial pentru diferențierea gemenilor monozigoți de cei dizigoți — întreprinse de Siemens, Weitz, Verschuer au contribuit la fundamentarea gemelologiei moderne și au înlesnit studierea rolului jucat de factorii ereditari și de factorii de mediu în dezvoltarea caracterelor.

Formarea gemenilor

Nașterea gemelară este un fenomen obișnuit pentru cele mai multe mamifere. De obicei, la fiecare ovulație sînt eliminate mai multe ovule și fiecare va fi fecundat de un spermatozoid. Se cunosc animale (ovine) la care sarcinile gemelare sînt mai frecvente decît sarcinile simple. În liniile obișnuite, raportul dintre sarcinile gemelare și sarcinile obișnuite este de 1/5.

Scanned with OKEN Scanner

La primate, inclusiv la om, în fiecare ovulație se elimină un singur ovul. Excepțiile sînt relativ rare. În asemenea împrejurări se produce sincron maturarea și ruperea a doi foliculi. Se cunosc puține cazuri în care un folicul conține două sau mai multe ovule. Dar indiferent dacă au fost fecundate două ovule din doi foliculi de Graaf sau dintr-unul singur, ele au mase ereditare deosebite. În acest caz rezultă gemeni cu aceleași caractere ereditare ca și frații, putînd avea același sex sau sexe diferite. Diferențele morfologice sînt însă evidente. Aceștia sînt gemenii dizigoți și apar ca rezultat al unui fenomen, mai mult sau mai puțin rar, de poliovulație.

Apariția gemenilor monozigoți este produsul unui fenomen de poliembrionie. Fecundarea este singulară. Prin fecundarea unui singur ovul de către un singur spermatozoid se formează un ou. Acesta însă se divide în două sau mai multe părți și fiecare parte generează un individ. Fiecare individ este întru totul asemănător genetic celorlalți frați.

Tripleții se formează pe două căi: fie că un ovul se divide în două și sincron este fecundat un alt ovul, fie că sînt fecundate în același timp trei ovule. Cuadruplii se pot forma prin cinci mecanisme:

1. Monozigoți, în care caz toți cei patru copii s-au dezvoltat dintr-un singur ou și au aceeași masă ereditară. Ca atare toți sînt de același sex.

2. Dizigoți: teoretic, uneori este posibil ca din două ouă fecundate sincron să se formeze două cupluri. Membrii aceluiași cuplu sînt identici, dar deosebirile dintre cupluri sînt ca între frați. Alteori, dintr-un singur ovul fecundat se formează trei copii monozigoți, iar din al doilea ovul un singur individ. Sexul lor va fi același sau diferit: patru băieți, patru fete, trei băieți și o fată, trei fete și un băiat.

3. Trizigoți: cei patru membri se dezvoltă din trei ovule fecundate în același timp. Unul singur se divide și dă naștere la doi gemeni monozigoți. Sexele vor fi aceleași sau vor fi diferite: doi băieți și două fete; trei băieți și o fată; trei fete și un băiat; patru băieți sau patru fete.

4. Tetrazigoți: toți cei patru indivizi se dezvoltă din patru ovule. Ca atare, ei vor fi de același sex sau de sexe diferite.

Scanned with OKEN Scanner

Existența unor sarcini sextuple sau septuple este cu totul improbabilă la om. S-au citat cîteva cazuri, dar ele sînt foarte vechi și insuficient verificate.

Cauzele sarcinilor gemelare. Formarea gemenilor monozigoți a fost studiată experimental încă din secolul trecut. În 1900, Herbst reușește să obțină la steaua-de-mare separarea blastomerelor cu ajutorul apei de mare fără calciu. Totuși, cele mai demonstrative cercetări au fost realizate mult mai tîrziu, în deceniul al patrulea al secolului nostru. În 1930, Spemann separă un ou de salamandră, aflat în stadiul de două celule, în două jumătăți egale, printr-o legătură pe șanțul de simetrie. Din fiecare jumătate s-a născut un pui normal, identic cu partenerul său. În etapele mai tîrzii ale diviziunii oului, rezultatele pozitive sînt mult mai rare.

Cauzele care favorizează apariția sarcinilor gemelare monozigote la om nu se cunosc. Se pare că există o anumită concentrare familială, dar rezultatele statistice ale fenomenului nu sînt încă suficient de concludente. S-a constatat totuși că monozigoții provin uneori din familii în care sarcinile gemelare sînt mai frecvente decît media generală.

În schimb, gemelaritatea dizigotă la om pare favorizată de vîrsta înaintată a mamei. Fenomenul a fost studiat de mai multe ori și întotdeauna s-a constatat că frecvența sarcinilor biviteline este de două ori mai mare la mamele între 30—39 de ani decît la mamele tinere.

Din tabelul ce urmează se remarcă că incidența sarcinilor monozigote rămîne aproape constantă, indiferent de vîrsta mamei. Întrucît paralel cu vîrsta mamei crește firesc și numărul sarcinilor, s-a presupus că incidența gemelarității este în funcție și de paritate. Ipoteza lansată în 1866 de Duncan a fost admisă frecvent în genetică. Totuși, cercetările lui Zazzo (1960) au arătat că acest aspect nu are importanță, deoarece la aceeași vîrstă frecvența gemenilor la primipare și la multipare este foarte asemănătoare. Această observație permite să se stabilească legea după care factorul care mărește șansele de gemelaritate la specia umană nu este numărul de sarcini anterior, ci vîrsta mamei.

Scanned with OKEN Scanner

DISTRIBUȚIA SARCINILOR GEMELARE MONOZIGOTE ȘI DIZIGOTE ÎN PERIOADA 1945-1955 (DUPĂ ZAZZO)

Totalul nașterilor	Vîrsta mamei							Total
	Sub 20 ani	20—24 ani	25—29 ani	30—34 ani	35—39 ani	40—44 ani	Peste 45 ani	
	262896	2232664	2487177	1463667	909244	360019	32209	7747876
Nașteri duble	2043	19530	27156	19893	14231	4865	234	87952
Sarcini monozigote	451	5549	8760	6840	5233	1711	39	28583
Sarcini dizigote	902	11098	17520	13680	10466	3422	78	57166
% din gemeni								
Gemeni dizigoți	44,1	56,8	64,5	68,8	73,5	70,3	33,3	65,0
Gemeni monozigoți	55,9	43,2	35,5	31,2	26,5	29,7	66,7	35,0
% din populația totală								
Gemeni dizigoți	0,34	0,49	0,70	0,93	1,15	0,95	0,24	0,74
Gemeni monozigoți	0,43	0,37	0,39	0,42	0,41	0,40	0,48	0,401
Gemeni monozigoți + gemeni dizigoți	0,77	0,86	1,09	1,35	1,56	1,35	0,72	1,14

Diagnosticul gemenilor. Diagnosticul de monozigoție sau dizigoție nu este întotdeauna ușor. Atunci cînd gemenii au sexe diferite, diagnosticul de dizigoție este cert. Situația este mai

grea cînd gemenii au același sex. În aceste cazuri se folosește metoda de diagnostic polisimptomatic, introdusă în genetică în 1924 de Siemens și perfecționată ulterior de Weitz, Verschuer și Penrose.

Pentru punerea diagnosticului se compară un număr relativ mare de trăsături morfologice și fiziologice. Înainte de orice examen se studiază, dacă este posibil, membranele fetale.

De obicei, gemenii monozigoți sînt monochorionici, adică amîndoi sînt înveliți în același sac membranos. Dar aceasta nu este o regulă generală, ci procesul are loc numai atunci cînd diviziunea oului s-a făcut în timpul implantării. Dacă diviziunea s-a petrecut înainte, gemenii pot fi dichorionici. De aceea, prezența a două chorioane nu exclude monozigoția.

În mod obișnuit, gemenii dizigoți au placentă și saci membranoși separați. Uneori însă, se poate produce o fuziune parțială a placentei și a chorionului, care lasă impresia că există o singură placentă și un singur chorion. De aceea, examenul placentei și al membranelor trebuie făcut cu multă grijă.

Oricum, această cercetare are numai un caracter orientativ. Apoi se studiază diferite caractere, ca structura pielii (culoare, vascularizație, grosime), forma, culoarea și răspîndirea părului pe corp, forma și structura ochilor (pigmentația irisului, marginile pupilei, fanta palpebrală. De asemenea, se iau în considerație caracterele feței (forma urechilor, a nasului, a gurii și a dinților), forma mîinilor (lungimea degetelor, forma unghiilor) și forma corpului (înălțime, raporturi între segmente).

Diagnosticul polisimptomatic nu este întotdeauna suficient pentru a diferenția gemenii monozigoți de cei dizigoți. Unele caractere pot fi influențate de mediu mai puternic și în acest caz între gemeni apar diferențe importante. Așa de pildă, folosind caracterele somatice, Marschall a clasificat drept univitelini 30 de perechi de gemeni. Dintre aceștia însă cinci erau dizigoți. De aceea, pentru a elimina erorile s-a introdus studiul amprentelor și al caracterelor cu origine genetică cunoscută. La monozigoți, desenele palmare și plantare sînt mult mai asemănătoare decît la dizigoți. Coeficientul de corelație între numărul de creste la monozigoți este de 0,95, iar la dizigoți de 0,49. O mare importanță o are cercetarea grupelor sanguine, a

Scanned with OKEN Scanner

haptoglobinelor, a statusului secretor și a capacității de a simți gustul feniltiocarbamidei.

O ultimă, dar deosebit de utilă, posibilitate de a diferenția gemenii o constituie grefele de piele. Diagnosticul de monozigoție este aproape întotdeauna corect dacă există mari similitudini morfologice, dacă caracterele fiziologice sînt identice și dacă grefele reciproce au prins. Riscul de a greși prin acest complex de analize devine neglijabil sau aproape neglijabil.

Frecvența sarcinilor gemelare. Frecvența sarcinilor gemelare nu este prea mare. Numeroase statistici i-au permis lui Hellin să formuleze legea conform căreia o naștere dublă apare o dată la 90 de nașteri simple, o naștere triplă apare o dată la 90 de nașteri duble, o naștere cvadruplă apare o dată la 90 de nașteri triple și o naștere qvinduplă apare o dată la 90 de nașteri cvadruple.

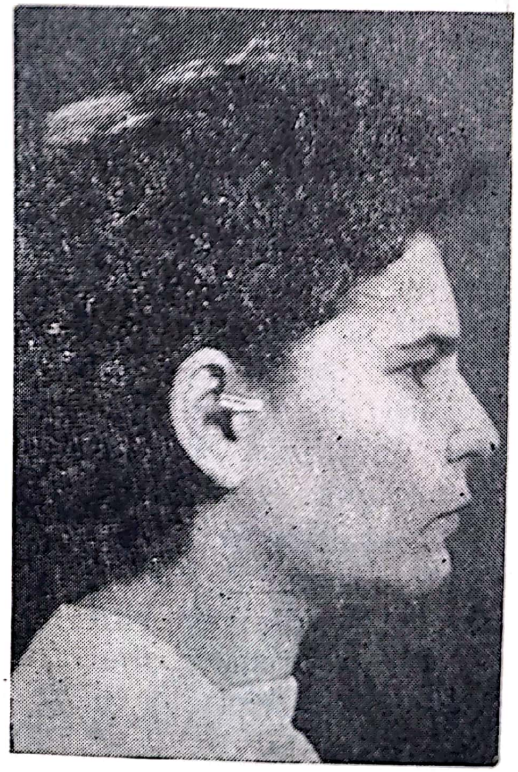
FRECVENȚA SARCINILOR GEMELARE (DUPĂ VOGEL, 1961)

Țara	Perioada	%	Raportul dintre sarcinile singulare și sarcinile gemelare
Suedia	1901—1910	1,5	65,6
Suedia	1926—1935	1,42	69,0
Danemarca	1901—1910	1,42	69,0
Danemarca	1926—1935	1,59	61,7
Finlanda	1901—1910	1,41	70,0
Finlanda	1926—1935	1,45	67,9
Bulgaria	1901—1910	1,43	69,0
Bulgaria	1926—1935	1,17	84,7
Germania	1901—1910	1,29	76,1
Germania	1926—1935	1,21	81,6
Italia	1901—1910	1,18	83,6
Italia	1926—1935	1,29	76,7
Franța	1901—1910	1,10	89,8
Franța	1926—1935	1,07	91,8
Spania	1926—1934	0,89	111,0
U.S.A.	1929—1935	1,17	84,0
Australia	1926—1935	1,06	92,0
Uruguay	1926—1934	1,00	101,8
Japonia	1929—1935	0,36	276,0
China	1936	0,34	294,0

Scanned with OKEN Scanner

44. Gemeni monozigoți în diferite perioade de viață (după Moraru—Țurai)

Scanned with OKEN Scanner



Scanned with OKEN Scanner

Frecvența sarcinilor gemelare este inegal răspîndită în diferite țări. În Europa, ea crește de la 0,8% în Italia de sud, la 1,4—1,6% în Europa de nord. Cele mai rare cazuri de sarcină gemelară se întîlnesc în Japonia și China.

Frecvența gemenilor în țara noastră pare să fie relativ mare. Între 1934 și 1936 ea a fost de 2,74%, cu diferențe geografice importante, și anume 2,81% în Bucovina și 2,19% în Transilvania (Perția, 1934). În izolate, frecvența poate fi uneori și mai mare. Astfel, în satul Rudăria din Banat, în ultimii 50 de ani frecvența a oscilat în jurul valorii 1,4%. În țara Loviștei însă s-au întîlnit în unele perioade valori cu totul neobișnuite. Așa de pildă, între 1916 și 1920 frecvența a fost 6,64%, între 1881 și 1895, de 3,8%, iar între 1921 și 1925, de 3,6%. În ultimul deceniu numărul sarcinilor gemelare a oscilat între 1,5 și 2% (C. Maximilian).

Metoda gemenilor. În general, se consideră că monozigoții au aceeași masă ereditară, în timp ce gemenii dizigoți au structuri genetice diferite. Ca atare, amploarea variațiilor dintre membrii aceluiași cuplu ar putea aduce informații despre importanța relativă a eredității și a mediului în dezvoltarea caracterelor normale și patologice.

Această diferențiere se poate face mai ușor prin studiul gemenilor monozigoți, deoarece în acest caz se întîlnesc doi indivizi identici din punct de vedere genetic. Totodată, în interpretarea gemenilor monozigoți trebuie să se ia în considerație faptul că din momentul fecundației și pînă la naștere ei au suferit aceleași influențe ale mediului și aceleași condiții intrauterine. De foarte multe ori însă și după naștere mediul este aproape identic pentru copii, ei fiind crescuți în aceeași atmosferă familială. Se poate deci presupune că orice diferență între monozigoți se datorește mediului.

Rezultatele pe care le aduce studiul gemenilor dizigoți sînt și ele extrem de valoroase. În mod obișnuit, cercetările asupra gemenilor dizigoți sînt folosite în genetica medicală. Se consideră că apariția mai frecventă a unei tulburări la gemenii monozigoți decît la cei dizigoți reprezintă o dovadă că tulburarea cercetată este de natură ereditară. În caz că discordanța

este mai mare la monozigoți, se consideră că tulburarea se datorește condițiilor de mediu.

Dar studiul gemenilor a fost folosit nu numai de către genetică. Deoarece gemenii monozigoți prezintă o identitate genetică, se presupune că ei ar trebui să aibă aceleași caractere somatice și psihice. De aceea, studiul gemenilor a fost abordat și de antropologie, și de psihologie. Prin eforturile comune ale acestor ramuri ale biologiei s-au studiat cîteva mii de cupluri, fapt care a contribuit la clarificarea multor probleme ale eredității umane.

În continuare, vom descrie metodele cu ajutorul cărora pot fi studiați gemenii.

Metoda clinico-gemelară (Gedda) constă în cercetarea comparativă a mai multor serii de gemeni monozigoți și dizigoți, stabilindu-se gradul lor de concordanță. Această metodă dă rezultate mulțumitoare numai dacă seriile sînt suficient de mari. Evident, dacă afecțiunea respectivă se întîlnește foarte rar și deci posibilitatea de a găsi un număr mare de afectați este extrem de redusă, atunci devin valoroase și observațiile efectuate pe un număr redus sau chiar pe un singur cuplu.

Cercetarea se poate face fie prospectiv, cînd se urmărește un număr oarecare de gemeni timp mai îndelungat, fie retrospectiv, în care caz se analizează comparativ istoria vieții cuplurilor de gemeni. Prin această metodă se studiază îndeosebi efectele mediului înconjurător. Punctul de plecare îl constituie diferențele dintre gemenii monozigoți. Kallmann a dezvoltat această metodă, introducînd ca element suplimentar studiul familiei gemenilor. Cu această metodă s-a demonstrat, de pildă, că schizofrenia implică un puternic coeficient ereditar. Astfel, în familiile monozigoților, incidența bolii este mult mai mare decît în restul populației.

Metoda gemen-martor (co-twin) se folosește îndeosebi în psihologie. Unul dintre gemeni este supus unui efort particular și apoi se compară cu celălalt membru al cuplului.

Metoda a fost folosită și în medicină. Cu ajutorul ei se studiază gemenii monozigoți crescuți separat sau împreună. Faptul că deosebirea dintre gemenii crescuți separat este evident mai mare decît între gemenii crescuți împreună reflectă inter-

Scanned with OKEN Scanner

venţia factorilor de mediu. Metoda trebuie însă judicios folosită.

În 1959, Deneker a studiat un grup de gemeni bolnavi, care, în urma unui traumatism cranian, prezentau ameţeli, cefalee, tulburări de memorie etc. Cînd seria de control era formată din gemeni dizigoţi, aceste tulburări păreau secundare traumatismului. Dacă însă seria martor era formată din ceilalţi membri ai cuplurilor monozigote, atunci atît traumatizaţii, cît şi martorii prezentau tulburări asemănătoare. Iată de ce această metodă trebuie folosită cu mult discernămînt.

Ereditate şi caractere antropologice

Cercetările lui Verschuer, efectuate pe aceleaşi cupluri de gemeni timp de 25 de ani, au arătat că la gemenii monozigoţi trăsăturile somatice evoluează în mod asemănător. Marea similitudine se păstrează de-a lungul întregii lor vieţi.

La gemenii dizigoţi diferenţele existente la naştere se amplifică cu timpul. Totodată, cercetările de gemelologie au arătat că în aceleaşi condiţii de mediu unele caractere se modifică mai mult, altele mai puţin. Aşa se explică de ce la gemenii monozigoţi există totuşi unele diferenţe. Cele mai importante deosebiri se referă la greutatea corpului şi la unele circumferinţe — caractere extrem de labile. În grupa caracterelor stabile faţă de mediu sau a celor care reacţionează în mod asemănător la acţiunea acestuia intră diferite caractere antropologice, cum sînt: înălţimea corpului, lungimea capului şi diametrul umerilor.

Rezultatele observaţiilor asupra gemenilor dizigoţi sînt mai puţin clare şi mai greu de analizat, deoarece în acest caz variabilitatea individuală este foarte mare.

Oricum, în interpretarea observaţiilor trebuie să se ţină seama de faptul că unele caractere pot fi influenţate de sex.

Componentele sîngelui, de pildă mărimea hematiilor, ca şi electrocardiograma şi electroencefalograma sînt de asemenea ereditare.

În 1959, Kalmus a încercat să vadă dacă monozigoţii au sau nu acelaşi miros al corpului. Studiul s-a făcut cu ajutorul

Scanned with OKEN Scanner

cîinilor polițiști. Așa cum era de așteptat, cîinii au operat diferențierea extrem de greu.

Caracterele fiziologice nu au însă întotdeauna o origine ușor de recunoscut. Așa de pildă, se crede că pulsul și tensiunea arterială se datoresc atît eredității, cît și mediului.

Numeroase alte cercetări au arătat că tot ereditare sînt forma și poziția diferitelor organe. În 1957, Osato includea în această serie toracele, inima, crosa aortei și stomacul. Pielea, cu întreaga ei structură, este extrem de asemănătoare la monozigoți. Mai tîrziu s-a demonstrat că și dermatoglifele au aceeași origine. Cu toate acestea, chiar și la gemenii monozigoți apar cu timpul mici deosebiri. Se pare că cel mai mare grad de asemănare al dermatoglifelor se întîlnește între 6 și 8 ani. De aceeași natură sînt culoarea și structura irisului.

Durata de viață

Viața unui individ este condiționată de numeroși factori, printre care ereditatea ocupă, fără îndoială, un loc important. Afirmația, cu caracter mai mult teoretic, se sprijină pe faptul că reactivitatea la infecții și potențialul funcțional al organelor sînt determinate genetic. Dar în marea diversitate a condițiilor mezologice ale lumii contemporane moartea poate fi determinată și de factori brutali de mediu sau de tulburări organice în care ereditatea nu pare să intervină. Numai așa s-ar putea explica de ce concluziile pe care le oferă studiul gemenilor sînt atît de discordante. Astfel, Kallman și Feingold au studiat o mare serie de gemeni din New York trecuți de 60 de ani și 59 de cupluri care au murit înainte de 60 de ani. Ei au remarcat că diferența medie a duratei vieții este de 35,6 luni la monozigoți și de 78,3 luni la dizigoți. Pe baza acestor observații, ei presupun că durata medie de viață este determinată ereditar.

Studiile întreprinse de Verschuer nu au confirmat însă aceste concluzii. Cercetînd un material mai puțin numeros (18 cupluri în care au murit ambii membri și 34 de cupluri în care a murit numai unul), el susține că diferența mediei de viață este oarecum asemănătoare, fiind de 5 ani și 6 luni la monozigoți și de 4 ani și 5 luni la dizigoți. De asemenea, Verschuer afirmă

Scanned with OKEN Scanner

că atunci cînd numai unul dintre membrii cuplului monozigot moare, celălalt mai trăiește, în medie, 8 ani și 10 luni. Dacă moare unul dintre membrii unui cuplu dizigot, celălalt mai trăiește încă 7 ani și 2 luni.

Problema este încă nerezolvată, cel puțin la om. Se pare totuși că ereditatea nu poate fi exclusă dintre factorii care intervin în longevitate. Ipoteza este sprijinită de numeroase familii în care viața îndelungată este un fenomen obișnuit, precum și de observațiile făcute la animale.

Gemeni și patologie

Patologia este domeniul în care studiul gemenilor a adus cele mai multe și mai interesante contribuții. În cazul în care o boală este ereditară, ea va apărea la ambii membri ai cuplului monozigot (concordanță). Dacă boala este determinată de mediu, atunci unul dintre membri va fi afectat și celălalt, normal (discordanță). Aceasta este însă numai o formulare cu totul generală. Se poate întîmpla ca o noxă care intervine în cursul vieții intrauterine să afecteze ambii membri (fenocopii). Pentru a evita confuzia, cercetările noastre trebuie făcute pe serii mari.

Ereditatea și bolile comune

Există o categorie de boli cu mare răspîndire, a căror origine ereditară nu poate fi stabilită prin metodele genealogice obișnuite, deoarece în asemenea împrejurări apare cu siguranță o oarecare concentrare familială. În aceste cazuri s-a folosit metoda gemenilor. Rezultatele cercetărilor sînt însă discordante.

Într-unul dintre cele mai ample studii efectuate pînă acum în gemelologie, Marshall consideră că apendicita, tumorile benigne, otitele medii, dermatitele exematoase, herniile, hepatitele infecțioase, reumatismul, sinuzita sînt ereditare. Nu se găsesc indicații genetice pentru apariția fracturilor, a ulcerului peptic și a tuberculozei.

Scanned with OKEN Scanner

Concluziile lui Marshall au fost deseori diferite de cele desprinse din alte cercetări. De pildă, Harvald nu observă o concordanţă mai mare la monozigoţii cu reumatism decît la dizigoţii cu reumatism. Cercetările mai vechi ale lui Doig şi Siemens nu au putut confirma existenţa unui factor ereditar în apariţia apendicitei.

De asemenea, opus observaţiilor lui Marshall, Ivy susţine că ulcerul peptic este ereditar, deoarece puţinele cupluri monozigote pe care le cunoaşte au fost toate concordante.

Bolile infecţioase

Cercetările asupra rezistenţei la bolile infecţioase au confirmat observaţiile mai vechi, care arătau că în aceleaşi condiţii de mediu unele persoane fac o boală infecţioasă altele nu. Pentru a explica această variabilitate s-a admis că diferenţele individuale sînt condiţionate genetic. În acest scop, în 1951, Herndon şi Jannings au studiat 47 de perechi de gemeni, 14 monozigoţi şi 33 de dizigoţi, care au prezentat, unul sau amîndoi, poliomielită paralitică. În această serie au fost incluşi numai gemeni care au locuit împreună în timpul bolii, dar s-au ţinut sub observaţie şi ceilalţi membri ai familiilor gemenilor. Rezultatele sînt concludente. La gemenii monozigoţi concordanţa este de 35,7%, la dizigoţi, 6,06%, la fel de mare ca şi la ceilalţi fraţi şi surori ai gemenilor.

Aceste rezultate au dus la presupunerea că paralizia nu apare decît la copii care au genă recesivă cu o penetranţă de 35%.

Dacă infecţia tuberculoasă nu este favorizată de un anumit teren, atunci concordanţa ar trebui să fie aceeaşi şi la monozigoţi şi la dizigoţi. Totuşi, Diehl şi Verschuer au arătat că gemenii monozigoţi sînt concordanţi în 70% din cazuri, în timp ce gemenii dizigoţi, deşi au acelaşi risc ca şi monozigoţii, nu sînt concordanţi decît în 25% din cazuri.

Cercetările lui Diehl şi Verschuer au scos la iveală şi alte fapte importante în sprijinul ipotezei că apariţia şi evoluţia bolii implică o anumită structură ereditară. Astfel, la gemenii monozigoţi localizarea infecţiei şi gravitatea afecţiunii sînt surprinzător de asemănătoare. De pildă, van den Hoeve a întîl-

Scanned with OKEN Scanner

nit gemeni monozigoţi concordanţi pentru tuberculoza renală, tuberculoza calcaneului şi pentru tuberculoza peritoneală, iar Vogt a descris monozigoţi concordanţi cu cheratită scrofuloasă. Mai mult, atunci cînd unul dintre membrii cuplului monozigot s-a îmbolnăvit, aproape în acelaşi timp s-a îmbolnăvit şi celălalt.

Aceste observaţii sugerează că ereditatea rămîne unul dintre factorii care influenţează nu numai sensibilitatea la infecţii, ci şi localizarea, evoluţia şi gravitatea bolii.

Dar, ca în foarte multe cercetări gemelologice, concluziile cercetărilor pot varia de la o serie la alta. Reamintim că Marshall nu a găsit o concordanţă mai mare la gemenii monozigoţi cu tuberculoză decît la gemenii dizigoţi cu tuberculoză.

Tumorile maligne

Despre originea tumorilor se ştie foarte puţin. Se presupune că ereditatea are un rol favorizant în apariţia lor. Cercetările gemelologice întreprinse în acest sens n-au adus însă rezultate concludente.

Într-o sinteză mai veche, Macklin (1935) arăta că peste 60% dintre cele 62 de cupluri monozigote cercetate erau concordante, în timp ce din 43 de cupluri dizigote mai puţin de 38% erau concordante. La monozigoţi concordanţa privea atît localizarea, cît şi tipul tumorii. Boala apărea la al doilea membru al cuplului după un interval relativ scurt, de 0,6—1,5 ani. La dizigoţi, tumoarea era de acelaşi tip numai în 20% dintre cazuri, iar în caz de concordanţă, tulburările clinice apăreau la al doilea gemen mult mai tîrziu, după 3—8 ani. La concluzii similare a ajuns şi Turpin (1947). El admite că predispoziţia la cancer depinde parţial de ereditate şi parţial de mediu. Ereditatea ar interveni numai în localizarea tumorii. Momentul apariţiei însă este determinat exclusiv de mediu.

În anii 1955—1957, Hagedorn şi Allen au studiat mai multe cupluri de gemeni monozigoţi şi au remarcat că atunci cînd unul prezenta o formă deosebită de tumoare (de pildă, sarcoidoza sau boala lui Besnier-Boek), boala era întîlnită şi la celălalt.

Scanned with OKEN Scanner

Totuși, așa cum menționam mai înainte, nu toate cercetările împărtășesc acest punct de vedere. Într-o cercetare de mare anvergură efectuată în 1961 pe 652 de cupluri (141 de monozigoți și 511 dizigoți), Hauge și Harvald au observat că rata de concordanță este la fel de mare și la monozigoți, și la dizigoții de același sex. Nu au fost găsite diferențe nici în ce privește localizarea tumorii. Concluzia lor, probabil cea mai apropiată de adevăr, este că factorii genetici au un rol limitat în apariția tumorilor. Acest punct de vedere este sprijinit și de Jarvik, care a găsit că din 959 de perechi de gemeni, concordanța era de 9,8% printre monozigoți și de 5,1% printre dizigoți. Diferența este nesemnificativă.

Leucemia. Numărul cuplurilor monozigote în care unul sau ambii membri sînt afectați este foarte mic. Pearson, care a revăzut cazurile publicate în literatura americană și engleză, nu a întîlnit decît șase cazuri — patru concordante și două discordante la monozigoți. Nu se cunoaște nici un caz discordant la dizigoți. Aceste observații, mult prea puține pentru a fi demonstrative, sugerează totuși că apariția leucemiilor nu implică un coeficient ereditar important.

Afirmația este sprijinită și de celelalte cazuri de leucemie relatate în literatura europeană. Se mai cunosc încă cel puțin cinci cupluri mono și dizigote și toate au fost concordante. Faptul confirmă ipoteza că leucemia se datorește factorilor de mediu.

Caractere psihologice. Cercetarea aspectelor psihologice este deosebit de grea. Genetica nu a găsit încă nici o metodă care să-i permită să interpreteze individualitatea umană și să diferențieze în acest complex rolul eredității și al peristazei.

Singurul fapt cert este că se știe foarte puțin despre geneza caracterelor psihice. S-a remarcat, de pildă, că gemenii care trăiesc în condiții de mediu diferite pot prezenta deosebiri psihice importante. Freeman afirmă că gemenii monozigoți crescuți separați prezintă diferențe la fel de mari ca și gemenii dizigoți crescuți împreună.

Într-o amplă sinteză, apărută ca rezultat al studiului gemenilor crescuți împreună și separat, Shuttleworth ajunge la concluzia că dezvoltarea mintală este consecința intervenției ine-

Scanned with OKEN Scanner

gale a patru grupe de factori. Cantitativ acești factori ar reprezenta, cu aproximație, următoarele procente: 64% factori ereditari, 16% diferențe de mediu interfamiliale, 3% diferențe educative între copiii aceleiași familii și 17% factori micști (ereditate — mediu).

Asemănarea dintre gemeni este mai accentuată în copilărie. Prima mare diferențiere psihologică are loc la pubertate. Pentru a folosi o formulare clasică, la pubertate apare „criza de originalitate juvenilă" (Debesse, 1941). Apoi, cu timpul, diferențele se accentuează.

În realizarea acestor deosebiri intervine, în special în viața femeilor, rata de fertilitate. Dacă una dintre surori are copii și cealaltă nu apar complexe psihologice opuse.

Diferențe mai mult sau mai puțin importante se observă și în cursul școlii sau în alegerea unei profesiuni. Se cunosc, bineînțeles, și numeroase exemple în care membrii cuplului au evoluat paralel în școală și și-au ales aceeași profesiune. Într-unul din cuplurile monozigote urmărite de noi cele două surori, după ce au terminat cu rezultate asemănătoare școala medie, și-au ales aceeași profesiune, au făcut același sport și au obținut performanțe similare în atletism. În aceste asemănări, cel puțin pentru unele aspecte, nu poate fi exclus și un oarecare grad de imitație (Șerban, 1962).

Foarte multe cercetări de gemelologie au urmărit coeficientul de inteligență, gradul de dezvoltare mintală. Zazzo, de pildă, a studiat 45 de cupluri monozigote și 21 dizigote. Coeficientul de corelație era mare, de 0,90 la monozigoți și numai de 0,60 la dizigoți. În alte cercetări s-au obținut rezultate cu totul asemănătoare: 0,84 (Wingfield), 0,92 (Day Ella) și 0,88 (Newmann) la monozigoți. La dizigoți coeficientul era mult mai mic: 0,85—0,61 și, respectiv, 0,63.

Studiul gemenilor a adus rezultate mult mai importante în psihiatrie. În înțelegerea rezultatelor gemelologice trebuie pornit de la premisa că, deși s-au depus eforturi mari în ultimele decenii, progresele realizate în psihiatrie nu sînt deosebit de valoroase. Etiologia celor mai multe tulburări mintale rămîne obscură. Dar importanța problemei este cu totul excepțională. În lumea contemporană se apreciază că aproximativ 9% din oameni suferă de o tulburare mintală oarecare, care necesită

asistență medicală. Dintre aceștia cel puțin 2% sînt înapoiați mintali.

Rezultatele obținute prin studiul gemenilor sînt puțin surprinzătoare. Ele vin să demonstreze că cea mai mare parte a tulburărilor psihice recunosc o componentă ereditară majoră. Astfel, pe baza a numeroase date din literatură, Stern (1958) a constatat că în schizofrenie 86% dintre gemenii monozigoți sînt concordanți. La gemenii dizigoți, concordanța este mult mai mică (3,3—16,7%). Kallmann a subliniat un alt aspect important, și anume că la gemenii monozigoți boala începe la ambii frați în același timp sau la un interval mic, de circa 16 luni.

Folosind metoda gemeni-familie, Kallmann a arătat că schizofrenia are o importantă concentrare familială:

Monozigoți	86,2% concordanți
Dizigoți	14,5% concordanți
Frați	14,2% concordanți
Semifrați	7,1% concordanți
Copii	16,4% concordanți

În populația generală frecvența bolii, deși mare, este mult mai mică, fiind de 0,85%. În schizofrenia infantilă, concordanța gemenilor monozigoți este, de asemenea, mult mai mare decît la dizigoți (70,6% față de 17,1%).

În nevroze, concordanța gemenilor monozigoți este extrem de mare (90%), dar la dizigoți scade aproape la jumătate (43%).

De asemenea, în psihozele de involuție concordanța la monozigoți este aproape de opt ori mai mare decît la dizigoți (6%).

Tot pe baza studiilor de gemelologie a fost admisă și ipoteza că epilepsia recunoaște un important coeficient ereditar. Sintetizînd observațiile efectuate pe gemenii monozigoți, Metrakos a observat că diferența de concordanță dintre monozigoți și dizigoți este considerabilă: 60% la monozigoți și 10% la dizigoți.

În unele cazuri, înapoierea mintală se datorește mai mult eredității decît mediului. Trebuie remarcat însă că sub raport etiologic această grupă nu este omogenă, întîlnindu-se și cauze evident mezologice, cum sînt traumatismele din timpul nașterii sau encefalitele infecțioase, precum și cauze cert genetice, ca

Scanned with OKEN Scanner

idioţia fenilpiruvică. Prima grupă de cauze nu reprezintă probabil mai mult de 15% (Penrose, 1949). După toate probabilităţile, cele mai multe cazuri sînt mixte.

La gemenii monozigoţi concordanţa este de 86%. Dar, şi acesta este un element care subliniază valoarea mediului, şi gemenii dizigoţi sînt deseori concordanţi — 54% (Brugger).

Rămîne deschisă problema criminalităţii, care este aproape imposibil de lămurit numai prin studiul gemenilor, deoarece faptele de observaţie sînt destul de neconcordante. Astfel, într-o cercetare mai veche, Lange (1929) a găsit că printre monozigoţi concordanţa criminalităţii este de 77%, iar la dizigoţi numai de 12%.

Cu toate acestea, se pare că factorul major care intervine în geneza criminalităţii este mediul. Criminalitatea se întîlneşte de obicei la gemeni care provin din familii cu o situaţie materială precară. Ereditatea pare să fie responsabilă doar de o fracţiune redusă, formată din oligofrenici.

Boli determinate de mediu. În genetica medicală există o serie de boli despre care nu se ştie cert dacă sînt predominent ereditare sau predominent condiţionate de mediu. Din această categorie fac parte guşa, cretinismul endemic şi diabetul zaharat. Studiul comparat al gemenilor a arătat că distrofia endemică tireopată recunoaşte drept cauză majoră lipsa de iod în alimentaţie, iar diabetul zaharat rezultă din interacţiunea ereditate-mediu.

Pe aceeaşi cale s-a arătat că originea multor boli trebuie căutată în condiţiile de mediu.

În 1960, Myrianthopoulos constată că scleroza în plăci apare la fel de frecvent atît la monozigoţi, cît şi la dizigoţi. Deoarece în familiile acestor gemeni incidenţa este mai mare decît la restul populaţiei, participarea eredităţii la apariţia acestei boli nu poate fi exclusă.

Limitele metodei gemenilor

Metoda gemenilor a fost şi continuă să fie larg folosită în genetică. Datorită ei s-a arătat, cu un grad relativ mare de probabilitate, originea ereditară a multor boli.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetarea comparată a gemenilor a permis să se stabilească ce tulburări pot coexista și ce tulburări nu pot coexista într-un cuplu de monozigoți. S-au găsit astfel perechi în care unul dintre membri era anencefal și celălalt hidrocefal, dar nu s-a descris niciodată un cuplu în care unul dintre membri să fie schizofrenic, iar celălalt să prezinte un sindrom maniaco-depresiv. Acest aspect arată limitele de variabilitate ale unei anumite baze genetice (Waardenburg).

Studiul gemenilor a arătat, de asemenea, că penetranța incompletă este uneori rezultatul influenței mediului.

Dar concordanța nu constituie întotdeauna o dovadă indiscutabilă că o anumită tulburare este ereditară. Se poate întîmpla ca în cursul vieții intrauterine mediul să exercite aceeași influență asupra ambilor feți și să determine apariția unei fenocopii. În această ipoteză, studiul unei singure perechi este neconcludent.

Se poate întîmpla ca factorii de mediu să acționeze numai asupra unui singur copil. În acest caz unul dintre ei va fi normal și celălalt afectat. Asemenea exemple sînt destul de numeroase.

Datele pe care le oferă gemenii trebuie interpretate uneori cu prudență. Afirmația este valabilă îndeosebi pentru caracterele psihologice. Zazzo a observat că gemenii constituie totuși o lume aparte. Ei au o psihologie particulară, care nu poate fi generalizată. La formarea acestei psihologii contribuie nu numai calitatea de gemen, ci și faptul că aceștia sînt crescuți de obicei de mame mai în vîrstă, care imprimă dezvoltării lor anumite caractere.

Sub raport fizic, gemenii sînt de asemenea dezavantajați față de copiii normali. Ei se nasc în medie cu trei săptămîni mai devreme decît copiii negemelari și de aceea au la naștere o greutate mai mică cu aproximativ un kilogram decît ceilalți nou-născuți. Această diferență va fi refăcută în lunile următoare, dar ea lasă urme în dezvoltarea somatică.

BIBLIOGRAFIE

Allen, H. E., „Acta Ge. Me. Ge.", 6, 1957, 53.

Day Ella, J., The development of language in twins II. The development of twins, their ressemblances and differences. Child. Development, 1932.

Scanned with OKEN Scanner

Debesse, M., La crise d'originalité juvénile, 2ed P.U.F., Paris, 1941.
Deneker, S. J., „Acta Ge. Statist. Med.", 9, 1959, 221.
Diehl, K., Verschuer O., von; *Zwillingstuberculose,* G. Fischer, Jena-Verlag, 1933.
Doig, R. K., F. Pitman, „Med. J. Austr.", 2, 1957, 612.
Freeman, F. N., „Report 4th Conf. Child. Development", Chicago. 1933.
Gedda, L., *Studio dei gemelli,* Roma, Ed. Orizzonte medico, 1951.
Hagedorn, A., *Ophthalmologica,* 129, 1955, 73.
Harvald, B., M. Hauge, „Dan. Med. Bull.", 3, 1956, 150.
Idem, „Acta Med. Scandinav.", 173, 4, 1963, 459.
Hauge, M., B. Harvald, „Acta Ge. Statist. Med.", 11, 1961, 372.
Herndon, C. N., R. S. Jennings, „Am. J. Hum. Genet.", 3, 1951, 17.
Herbst, C., „Arch. Entwick. Mech.", 9, 1900, 424.
Ivi, A. C., F. T. Flood, „Gastroenterology", 1950, XIV, 375.
Kallmann, F. J., B. Roth, „Am. J. Psychiatr.", 1956, 112, 8.
Kalmus, H., „Brit. J. Anim. Behav.", 3, 1955, 25.
Lange, J., *Verbrechen als Schicksal, Studien an kriminellen Zwillingen,* Thieme Leipzig, 1929.
Marshall, A. G., E. O. Hutchinson, J. Honisett, „Brit. Med. J.", 1, 1962, 1.
Macklin, M., „Medicine", 14, 1935, 1.
Myrianthopoulos, N. C., R. P. Mackay, „Acta Ge. Statist. Med.", 10, 1/3, 1960, 33.
Neel, J. V., W. J. Schull, *Human Heredity,* Univ. of Chicago Press, 1954.
Newmann, H. H., F. N. Freeman, K. J. Holzinger, *Twins; a study of heredity and environment,* Univ. of Chicago Press, 1937.
Osato, S., Awano I., „Acta Ge. Me. Ge.", VI, 3, 1957, 283.
Penrose, L. S., *The Biology of Mental Defect,* Grune Stratton, New York, 1949.
Şerban, Al. M. D., C Maximilian, A. Tache, „Stud. cercet. endocr.", București, XIII, 3, 1962, 399.
Shuttleworth, F. K., „J. Educ. Psych.", 1935, 561, 655.
Siemens, H., *Die Zwillingspathologie,* Springer, Berlin, 1942.

Scanned with OKEN Scanner

10

Genetica caracterelor normale

Legile eredității mendeliene au găsit largi posibilități de aplicare și în cadrul speciei umane. Ereditatea unor serii întregi de caractere a putut fi elucidată cu ajutorul cercetărilor de antropologie, medicină și biologie generală. Contribuția cea mai prețioasă în domeniul geneticii umane a adus-o cercetarea gemenilor. Aportul lor este atît de mare, încît am putea spune că la om istoria eredității este, în mare parte, fundamentată pe observațiile efectuate asupra gemenilor.

În acest capitol ne vom referi la ereditatea caracterelor normale, curent studiate la om. Pentru ca un caracter să fie ușor utilizat în cercetarea de genetică, el trebuie să îndeplinească mai multe condiții: să fie ușor de determinat obiectiv, să se întîlnească frecvent în populația studiată, iar analiza sa statistică să fie efectuată pe un număr mare de subiecți. Aceste condiții numai rareori sînt îndeplinite. Cel mai adesea caracterele sînt determinate de mai multe gene și de aceea nu se mai supun legilor mendeliene. Așa se explică de ce în antropologie nu se folosesc decît aproximativ 50 de caractere, iar dintre acestea majoritatea se referă la grupele sanguine.

Ereditatea caracterelor psihice

Cu toate că aceste caractere sînt mai greu de analizat obiectiv pentru că o serie de factori (educația sau mediul social) joacă un rol important în dezvoltarea facultăților psihice și intelectuale ale indivizilor, asemănările uneori uluitoare observate la gemenii univitelini demonstrează că structura psihică este influențată de ereditate. Ca în toate cazurile în care un caracter este determinat atît de ereditate, cît și de mediu, modul de transmitere este încă necunoscut. Cîteva observații clasice au arătat că o serie de talente par să aibă caracter familial. Astfel,

Scanned with OKEN Scanner

predispoziţia pentru muzică este întîlnită deseori la mai multe generaţii, ca în familiile Bach, Beethowen, Schumann ș.a. Înclinarea spre pictură a fost remarcată în familiile Tizian, Holbein, Cranach. Talentul pentru matematică a putut fi urmărit la opt subiecţi, timp de trei generaţii, în familia Bernouille. Multe alte exemple ilustrează înclinări familiale spre o anumită activitate (familii de naturaliști, medici, literaţi etc.). Desigur, în aceste exemple nu trebuie ignorată contribuţia importantă pe care a avut-o mediul familial.

Ereditatea caracterelor morfologice

Numeroase cercetări făcute pe gemeni au arătat că multe caractere antropologice: talia, tipul de creștere, forma generală a corpului, forma capului, trăsăturile feţei, forma degetelor, a unghiilor etc. sînt toate caractere condiţionate genetic (Guyenot, 1948 și Just, 1940).

Astfel, statura este condiţionată de factorii fundamentali ai creșterii, care sînt necesari pentru ca individul să prezinte o dezvoltare normală.

Alături de factorii fundamentali există și variaţii fiziologice care se transmit ereditar. La gemenii univitelini, diferenţele de statură sînt mult mai mici decît la gemenii bivitelini. Cercetările pe familii au demonstrat că în majoritatea cazurilor părinţii înalţi au copii de statură înaltă, iar cei scunzi au copii de statură scundă. Excepţiile se datoresc faptului că variaţiile fiziologice ale staturii nu ascultă de o ereditate mendeliană simplă. Este vorba de caractere condiţionate de mai multe cupluri de gene purtate de cromozomi diferiţi, ceea ce face ca studiul transmiterii ereditare să fie mai dificil (Huron, 1959). Majoritatea geneticienilor susţin că genele care condiţionează statura joasă sînt dominante faţă de cele care condiţionează statura înaltă. Se ştie că talia individului este influenţată și de factorii mezologici, cum sînt mediul de viaţă, alimentaţia etc. În general, se poate admite că variaţiile fiziologice ale staturii se află sub controlul eredităţii, modul de transmitere al acestor caractere este încă nelămurit.

Scanned with OKEN Scanner

Alt caracter morfologic determinat genetic este forma capului. În favoarea acestei ipoteze pledează concordanța mare a formei capului constatată la gemenii univitelini. Ca și statura, forma capului este influențată de factori mezologici. Condițiile care antrenează o creștere a staturii tind să provoace o dolicocefalizare (Huron, 1959). După unii cercetători, un rol important revine condițiilor de viață ale sugarului (leagăn mai dur, felul de a purta nou-născutul etc.). În mod general, se pare că brahicefalia (cap rotund) domină dolicocefalia (cap alungit). Studiile pe familii demonstrează că de cele mai multe ori copiii prezintă o formă intermediară între părinți. Totuși, apar și brahicefalii și dolicocefalii dominante. Așa-numitele „capete familiale" pledează pentru condiționarea genetică a construcției generale a capului. De asemenea, o constatare binecunoscută este asemănarea intrafamilială a trăsăturilor feței. Natura ereditară a caracterului a fost confirmată și prin studiile pe gemeni. Această asemănare se datorește atît suportului material (scheletul) al feței, cît și părților moi. Pentru majoritatea geneticienilor forma nasului, conturul și înălțimea sa se moștenesc conform legilor mendeliene. Face excepție Kerenbach, care susține o ereditate intermediară. Aceste caractere cu mare variabilitate individuală reprezintă caracteristici rasiale.

Modul de transmitere ereditară este numai parțial cunoscut. Cercetările efectuate pe descendenții rezultați din căsătoriile oamenilor de culoare cu europenii au demonstrat că forma de nas lată este dominantă. În uniunile dintre populațiile europide însă, nasul îngust este dominant față de nasul lat. Profilul nasului prezintă o variată gamă individuală (convex, concav, drept și ondulat). Nasurile convexe se transmit dominant față de cele ondulate și drepte. Uneori forma de nas convex se transmite recesiv. Profilul nasului este influențat și de sex. Astfel, forma convexă este mult mai frecventă la bărbați decît la femei.

O puternică tendință familială se observă și în ce privește forma vîrfului nasului și forma și orientarea orificiilor nazale. Se pare că forma ascuțită a vîrfului nasului este dominantă față de forma rotunjită.

Forma buzelor, grosimea acestora sînt caractere ereditare determinate printr-o acțiune aditivă poligenică.

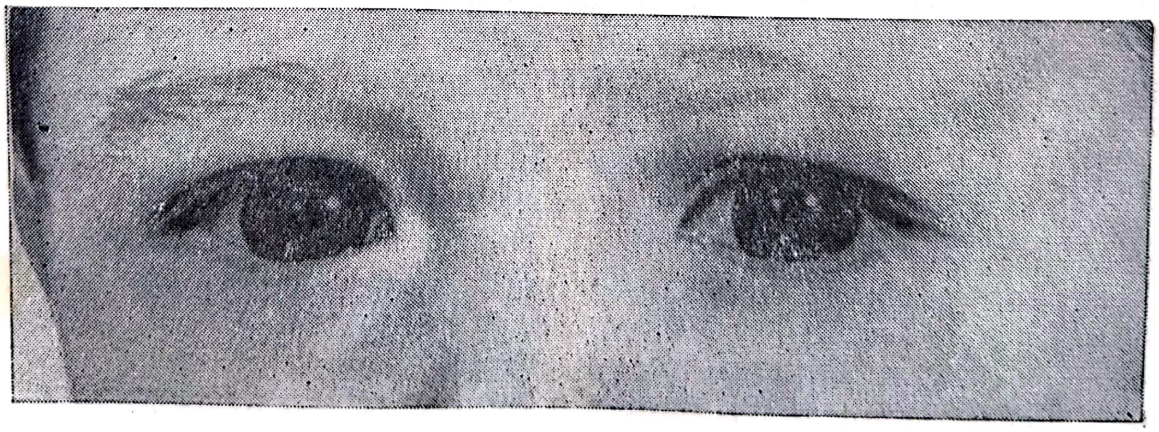
Scanned with OKEN Scanner

45. Plică mongoloidă

Cercetările familiale și studiile pe gemeni au arătat pentru gropița mentonieră o ereditate simplă, autozomală, cu penetranță mare și expresivitate variabilă.

Forma ochiului, a pleoapelor, a despicăturii palpebrale sînt, de asemenea, caractere ereditare determinate genic. Un caracter morfologic rasial și care se moștenește dominant este plica mongolica (fig. 45). Acest caracter trebuie diferențiat de epicantus care la europizi se întîlnește mai frecvent în copilărie și în sindromul Langdon-Down. Din punct de vedere ereditar, epicantusul se moștenește dominant.

46. Epicantus



Scanned with OKEN Scanner

Interesante sînt cercetările care au demonstrat ereditatea formei pavilionului urechii, a tipului ei de inerție și a anumitor particularități morfologice (fig. 47). În general, se admite că forma pavilionului urechii este determinată de acțiunea a cel puțin trei gene.

Dacă se analizează modul de transmitere ereditară al caracterelor enumerate mai sus, se constată că urechile inserate drept, înguste și lipite sînt dominante față de urechile oblice, late și dezlipite. În ceea ce privește modul de transmitere a poziției lobului urechii există mai multe controverse. Unii cercetători susțin dominanța lobului aderent față de cel liber, iar alții sînt de părere contrarie (Touraine, 1955). O anumită particularitate morfologică pe care o prezintă unele urechi, și anume tuberculul lui Darwin (fig. 48), se moștenește dominant.

Studiul geneticii caracterelor normale s-a ocupat și cu modul de transmitere a torusului palatinal, a părului de pe falanga a doua și a caracterelor venelor superficiale.

Cercetările privind ereditatea torusului palatinal făcute pe familii și pe gemeni (C. Maximilian, 1964) confirmă ereditatea dominant autozomală cu penetranță mare a acestui caracter (fig. 49).

În general, se admite că absența părului pe falanga a doua constituie un caracter recesiv, iar cele două tipuri principale (longitudinal și transversal) ale parcursului venelor superficiale ar fi condiționate de o singură pereche de gene (I. Schwidetzky, 1962).

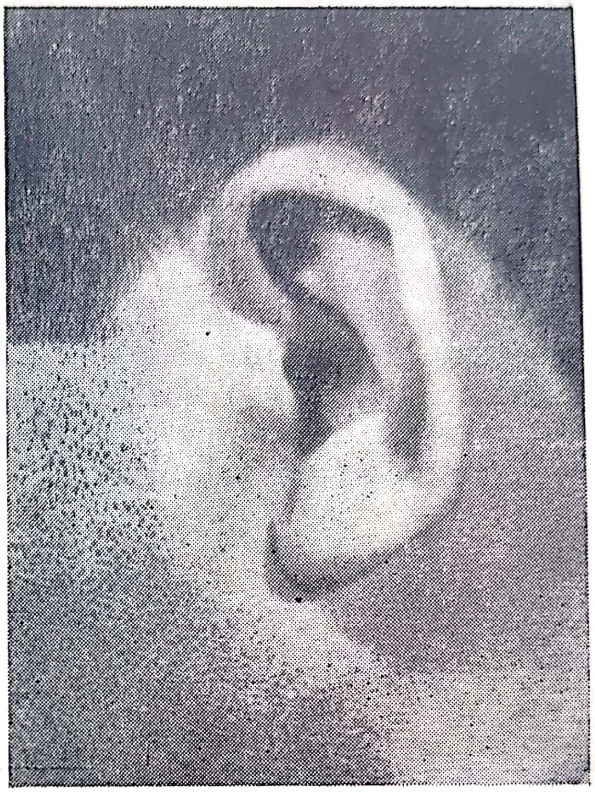
Culoarea părului, a pielii, a ochilor sînt caractere morfologice utilizate curent în studiile de antropologie. Cu toate că pentru unele dintre aceste însușiri se observă o anumită tendință de asociere, ele se transmit ereditar independent, fiind condiționate de acțiunea mai multor gene.

Pigmentația pielii se află sub influența a trei factori de intensitate variabilă: pigmentul negru, galben și sîngele capilarelor superficiale (Huron, 1959).

Ereditatea culorii pielii este încă puțin cunoscută. Ceea ce știm pînă în prezent se datorește unor lucrări foarte vechi, efectuate pe metișii dintre europeni și melanodermi (Fischer, 1913, Davenport, 1907—1910). Pentru a explica variabilitatea pigmen-

Scanned with OKEN Scanner

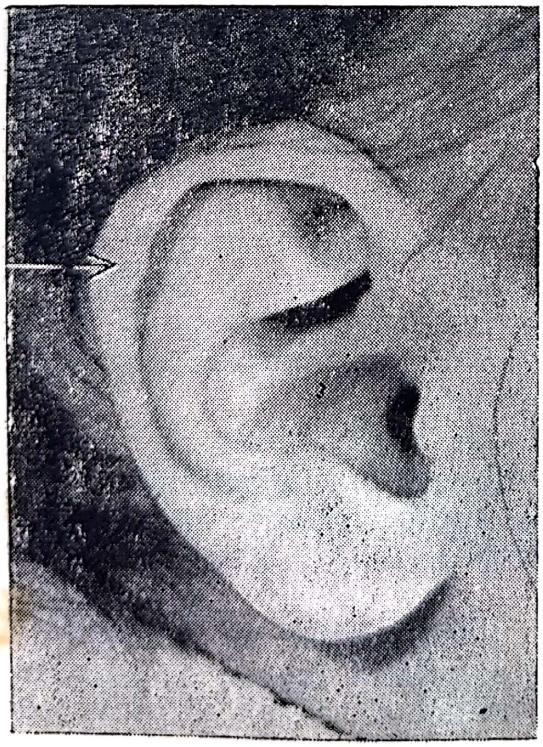
47. Asemănarea ca tip de inserție și particularități morfologice a urechii la tată (*a*) și la fiică (*b*)

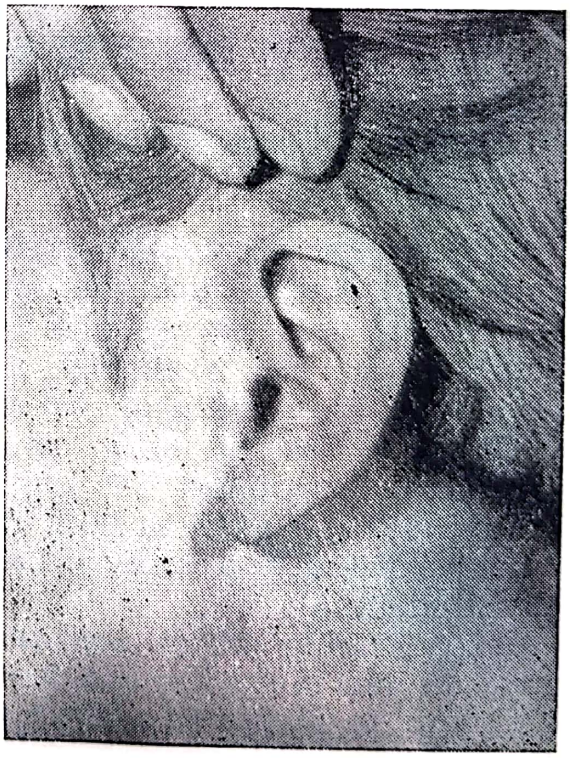


a

48. Ureche cu tuberculul lui Darwin

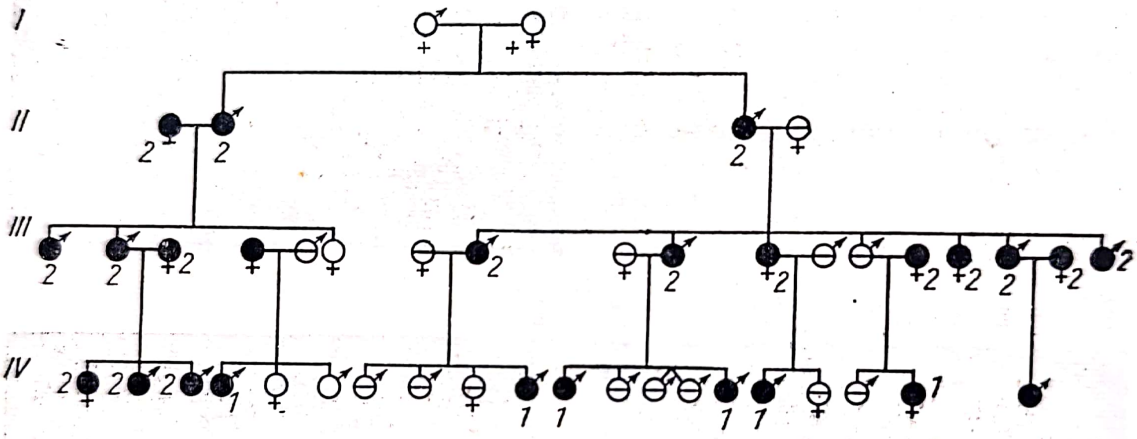
b





Scanned with OKEN Scanner

taţiei întîlnite la metişi, Davenport emite ipoteza că pigmentaţia pielii se află sub dependenţa a două cupluri de gene independente. Mai tîrziu, în 1953, Gates susţine ipoteza unei determinări trigenice. Totuşi, faptul că la mulatri părinţii de culoare mai deschisă pot avea copii de culoare mai închisă nu poate fi explicat decît prin ipoteza determinării poligenice a culorii pielii. În căsătoriile europenilor cu polinezienii, culoarea albă este dominantă, iar în căsătoriile mongolilor cu europenii, culoarea albă este recesivă. După Huron (1959), n-ar fi exclus ca unele dintre genele care determină pigmentaţia pielii să fie localizate pe cromozomul X.

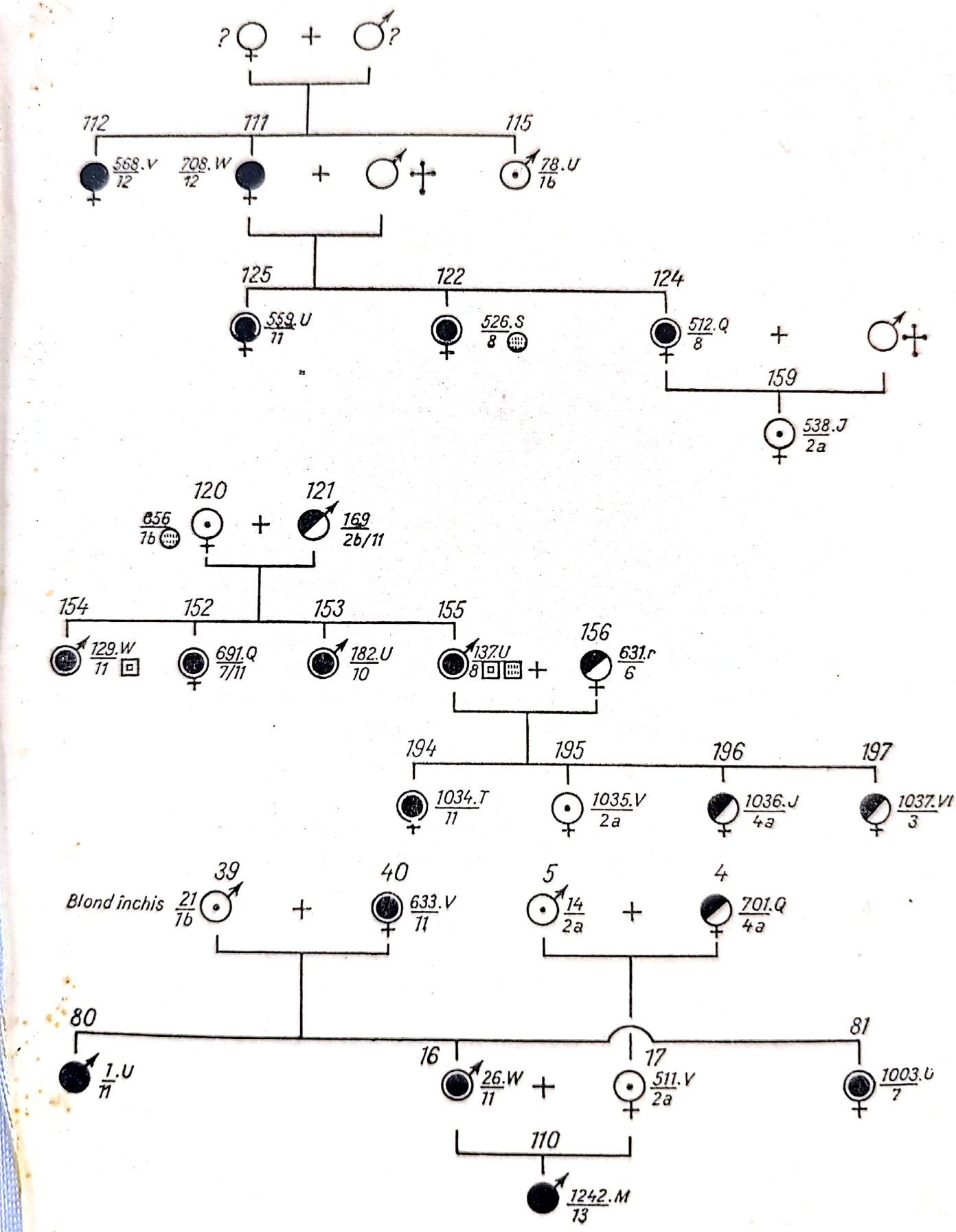


49. Torus palatin (după Maximilian)

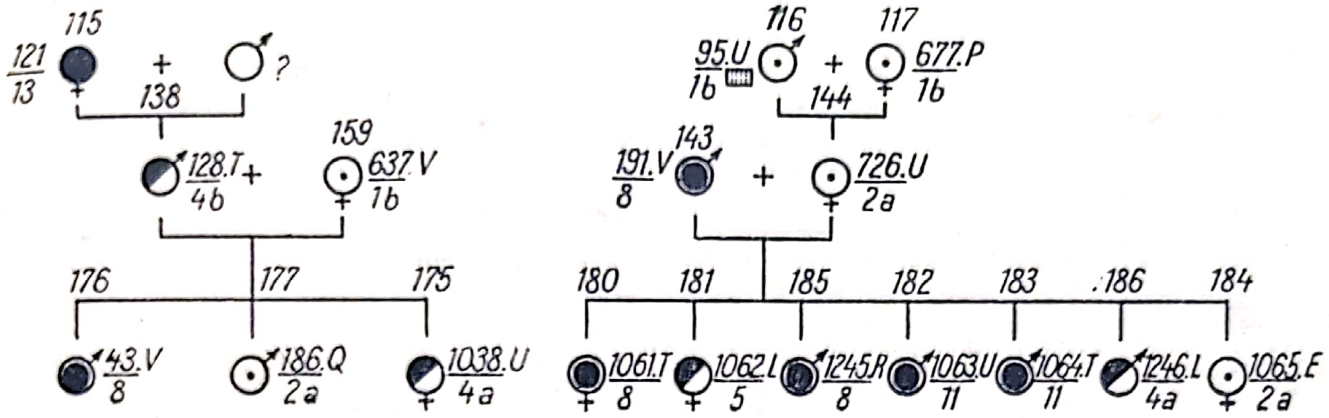
Alt caracter morfologic ereditar, determinat prin acţiunea a două gene, dintre care una dominantă şi cealaltă recesivă, este aşa-numita pată mongoliană. Ea se întîlneşte frecvent la mongoloizi şi mai rar la negrizi, mediteranizi şi europizii orientali. Ea dispare în cursul primului an de viaţă.

Culoarea părului şi a ochilor este indiscutabil de natură ereditară. Examinînd 215 cupluri de gemeni univitelini, Verschuer (1937) a găsit în 90% dintre cupluri nuanţe identice ale culorii părului şi a ochilor. La restul de 10%, diferenţele erau foarte mici.

După Fischer (1930), ereditatea culorii părului ar fi determinată de mai multe cupluri factoriale: primul factor, A, permite formarea pigmentaţiei, stările sale alelice a^4, a^3, a^2, a^1 provoacă



Scanned with OKEN Scanner



0. ♂ Iris tigrat (naevi)

♀ Iris tigrat (naevi)

♂ Cercuri de contracție

♀ Cercuri de contracție

Culoarea irisului

Culoarea deschisă (albastru, gri)

Culoarea intermediar deschisă

Culoarea intermediar închisă

Culoarea închisă

Citirea schemelor

Cifra de lîngă simbolul sexului arată numărul de ordine al fișei individuale; litera care îl urmează separată prin virgulă reprezintă culoarea părului. Numitorul din fracție arată culoarea irisului și alături de acesta sînt simbolurile de structură și de împrăștiere a pigmentului (naevi).

Astfel însemnarea: ♂ $\frac{17,\ S}{6}$ se citește: bărbat fișa 17, culoarea părului intermediar închisă, culoarea irisului intermediar deschisă, structura prezintă cercuri de contracție

Scanned with OKEN Scanner

o diluţie din ce în ce mai marcată, iar alela a împiedică orice pigmentaţie şi produce tipul albinos. Al doilea factor, B, condiţionează formarea pigmentului brun şi cel de-al treilea, M, al pigmentului negru. Un factor G ar fi responsabil de diferenţierile calitative ale părului capului şi ale acelora dintre pilozitatea corpului şi cea a capului. În general, studiul eredităţii culorii părului a arătat că nuanţele de culoare închisă sînt dominante faţă de cele deschise. Culoarea de păr roşu este determinată de o mutaţie autonomă R (Huron). Studiile pe familii (Wagner, 1954) arată că nuanţele de păr roşu se transmit dominant faţă de cele blonde şi recesiv faţă de nuanţele de păr brun.

Culoarea ochilor constituie, de asemenea, un caracter ereditar polimeric. Cu toate că părul blond este asociat deseori cu ochii albaştri şi părul brun, cu ochii de culoare închisă, aceste caractere se transmit independent unele de altele. Culoarea ochilor este produsă de o dublă pigmentare a irisului: o pigmentare a stratului superficial anterior şi o pigmentare a stratului profund posterior. Cînd pigmentul din stratul anterior lipseşte, ochii sînt albaştri. Pigmentarea stratului anterior dă ochi de culoare verde, căprui sau negri. Se crede că culoarea ochilor se află sub dependenţa a cel puţin două cupluri factoriale independente. Ochii negri s-ar datora acţiunii cumulative a alelelor dominante în stare homozigotă, iar ochii albaştri, acţiunii alelelor recesive homozigote. Culorile intermediare corespund genotipurilor heterozigote. Culoarea ochilor pentru acelaşi genotip este mai deschisă la bărbaţi decît la femei, la copil faţă de adult.

Cercetările pe familii (Wardenburg, Ritter, 1958) au demonstrat că şi structura irisului se transmite ereditar. Ea pare condiţionată de existenţa a trei gene. În fig. 50 sînt înfăţişate cîteva pedigriuri cu notaţia culorii părului, a ochilor şi a structurii irisului (după Horia Dumitrescu).

Forma părului constituie şi ea un caracter morfologic ereditar. În 1909, Davenport a demonstrat că părul ondulat se transmite dominant faţă de cel neted. Se cunosc mai multe grade de păr ondulat, fiecare grad superior de ondulaţie dominînd gradele inferioare. Fischer consideră că forma părului este determinată de două cupluri factoriale: S, care condiţionează răsucirea spiralată a părului, împreună cu alela sa recesivă s,

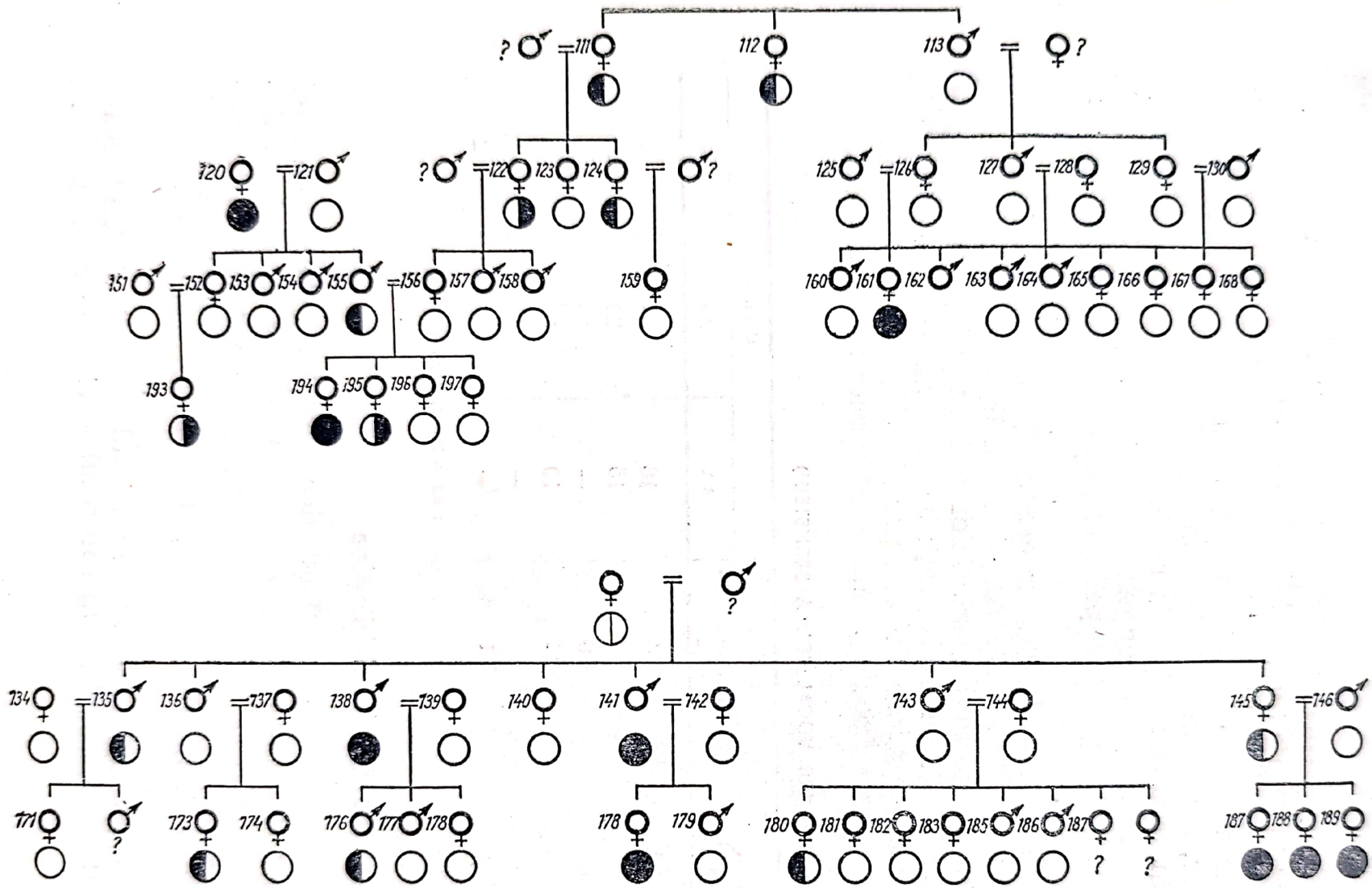
Scanned with OKEN Scanner

51. Principalele figuri de desene papilare:
sus arcuri; stînga, jos, laturi; dreapta, jos, vîrtejuri

ce nu antrenează această răsucire, și C, care determină ondulația părului, împreună cu alela sa recesivă c, care nu provoacă nici un fel de ondulație.

Cercetările pe familii și gemeni au demonstrat, între altele, și ereditatea reliefului papilar digito-palmar și plantar. El se evidențiază din luna a treia și a patra a vieții intrauterine și nu este influențat de factorii de mediu în tot cursul vieții individului. Cu toate că ereditatea dermatoglifelor este certă, modul de transmitere și numărul genelor care o condiționează nu sînt încă elucidate. Majoritatea autorilor opinează pentru condiționarea plurifactorială a acestor caractere, ceea ce concordă și cu cercetările noastre.

Scanned with OKEN Scanner



52. Pedigriu înfățișînd modul de transmitere ereditară al desenului palmar (figura asimetrică):
- ● Figură asimetrică la ambele mîini;
- ◐ Figură asimetrică la mîna stîngă;
- ◑ Figură asimetrică la mîna dreaptă;
- ○ Caracterul absent

Scanned with OKEN Scanner

În afară de forma desenelor papilare cu localizare digitopalmară (fig. 51, 52, 53), sau plantară, se mai moștenesc și liniile de flexiune ale palmei (fig. 54). Faptul că anumite aberații cromozomiale autozomale sînt însoțite și de modificări ale reliefului papilar, iar în anomaliile cromozomiale de sex relieful papilar este în general mai puțin modificat, ar pleda în primul rînd pentru localizarea genelor care condiționează transmiterea ereditară a dermatoglifelor pe cromozomii autozomali (Moraru, Antohie, 1964).

Înainte de a trece la analiza eredității caracterelor fiziologice, vom menționa interesanta constatare a lui Bernstein cu privire la ereditatea timbrului vocal. Celor trei moduri de timbru vocal: bas, bariton și tenor la bărbați; sopran, mezosopran și alto la femei, le corespunde o singură pereche factorială. Dăm mai jos un tabel în care se poate urmări ereditatea timbrului vocal.

EREDITATEA TIMBRULUI VOCAL (DUPĂ BERNSTEIN)

Combinații	Părinți	Copii		
	Numărul de combinații	AA	Aa	aa
AA × AA	4	18	—	—
AA × Aa	10	15	20	—
AA × aa	6	—	19	—
Aa × Aa	14	10	18	9
Aa × aa	2	—	4	4
aa × aa	1	—	—	2

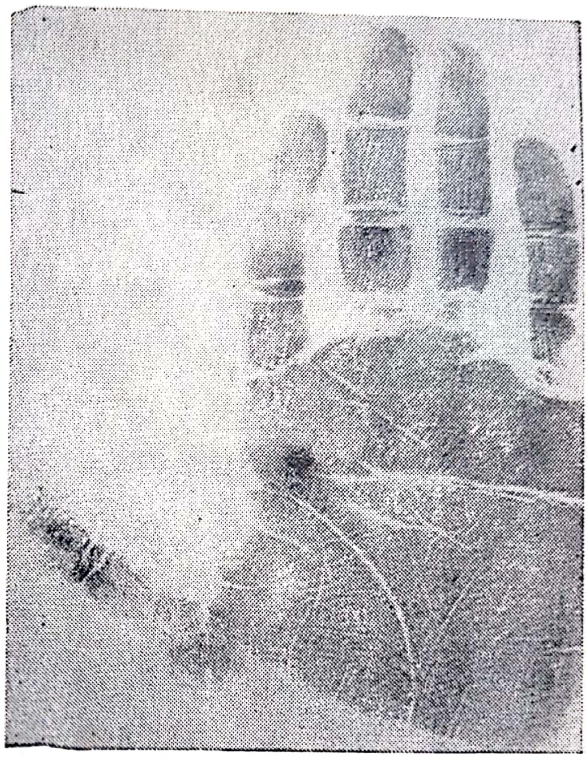
Aa = bariton, mezosopran; *AA* = bas, sopran; *aa* = tenor, alto.

Ereditatea caracterelor fiziologice

Numărul proprietăților fiziologice care au o bază ereditară este foarte mare. Așa de pildă, cercetările pe gemeni au demonstrat că longevitatea, somnul, variabilitatea electro-encefalogramei etc. sînt determinate ereditar. Asemenea proprietăți sînt utilizate și în antropologie, datorită frecvențelor genetice deosebite pe care le manifestă unele populații.

Astfel, capacitatea de a simți gustul amărui al feniltiocarbamidei (P T C) se află sub controlul unei gene dominante T.

53. Figură asimetrică



a

b

54. Sulcus palmar transvers la tată (*a*) și la fiu (*b*)

Scanned with OKEN Scanner

Gustătorii sînt homozigoți (TT) sau heterozigoți (Tt), iar negustătorii, homozigoți recesivi (tt). Proprietatea de a excreta aminoacizi urinari este de asemenea condiționată ereditar (Harris, 1962, Gartler, 1961). Capacitatea de a elimina cantități mari de acid β-aminoizobutiric (B A I B) se transmite dominant, iar proprietatea de a mirosi acidul cianhidric cunoaște și ea o ereditate mendeliană. Subiecții mirositori pot fi homozigoți (OO) sau heterozigoți (Oo), iar cei nemirositori sînt homozigoți recesivi (oo). Cercetările pe familii japoneze (Matsunga și Ebbing) au pus în evidență două tipuri de cerumen — uscat și umed. Ele sînt condiționate genetic de o pereche de alele în care formele umede sînt dominante.

Cele mai cunoscute proprietăți fiziologice și mai des utilizate în genetica umană sînt însă grupele sanguine. Ele îndeplinesc condițiile cerute de cercetarea genetică: sînt frecvente și ușor determinabile cu ajutorul anticorpilor specifici. Cu excepția sistemului Xg, genele care condiționează ereditatea grupelor sanguine sînt localizate pe cromozomii autozomali.

Antigenele ABO sînt localizate nu numai pe suprafețele hematiilor, ci și pe ale altor celule. La marea majoritate a indivizilor, aceste antigene se găsesc și în diferite humori (plasmă, salivă, spermă, sudoare), cu excepția lichidului cefalorahidian. Din punct de vedere imunologic, antigenele sînt identice. Ele diferă numai prin calitatea fizică, cele din humori fiind hidrosolubile, iar cele din celule, alcoolsolubile. Calitatea de a fi secretor (Se) sau nesecretor (se) este independentă față de grupele sanguine. Genele Se și se sînt însă în linkaj genic cu sistemul Lutheran și Lewis.

În ultimii ani genetica umană s-a îmbogățit cu descoperirea unor noi categorii de grupe sanguine. Datorită faptului că pot fi diferențiate pe baza conținutului în fracțiuni proteice, acestea au fost denumite grupe serice.

În concluzie, genetica însușirilor normale ale omului a format obiectul cercetărilor din numeroase domenii. Dar dacă pentru unele dintre ele, spre exemplu pentru cele fiziologice, studiile de genetică sînt foarte avansate, pentru altele, cum sînt cele psihologice și o mare parte a caracterelor morfologice, constituie domenii de cercetare încă nerezolvate.

Scanned with OKEN Scanner

PRINCIPALELE SISTEME SANGUINE ŞI GRUPE SERICE LA OM

Sistemul	Autorul şi anul descoperirii	Fenotip	Genotip		Observaţii
			homozigot	heterozigot	
A.B.O.	Landsteiner, 1900—1902	A_1	A_1A_1	A_1A_2 A_1O	ipoteza genică: alelie multiplă (trigenică, după Bernstein, 1931)
		A_2	A_2A_2	A_2O	
		B	B B	B O	
		A_1B		A_1B	
		A_2B		A_2B	
		O	O O		
M.N.S.s	Landsteiner şi Levine (MN), 1927 1947 (antigen asociat cu MN-Ss)	MS	MS MS	MS Ms	ipoteza genică: alelie multiplă (patru-MS sau Ms; Ns sau NS) sau pseudoalelie: M sau N; S sau s
		Ms	Ms Ms		
		NS	NS NS	NS Ns	
		Ns	Ns Ns		
		MNS	MS NS	MS Ns	
		MNS	Ms Ns	Ms NS	
Rh (*Rhesus*)	Landsteiner şi Wiener, 1940	CCDEE	$\frac{CDE}{CDE}$	$\frac{CDE}{CdE}$ $\frac{CdE}{CDE}$	ipoteza genică: şase gene localizate în trei perechi alelice: Cc Dd şi Ee (nomenclatura lui Fischer)
		CcDEE		$\frac{CDE}{cDE}$ $\frac{cDE}{CDE}$ $\frac{CDE}{cdE}$ $\frac{cdE}{CDE}$ $\frac{CdE}{cDE}$ $\frac{cDE}{CdE}$	
		ccDEE	$\frac{cDE}{cDE}$	$\frac{cDE}{cdE}$ $\frac{cdE}{cDE}$	
		CCddEE	$\frac{CdE}{CdE}$		

Sistemul	Autorul şi anul descoperirii	Fenotip	Genotip		Observaţii
			homozigot	heterozigot	
Rh (*Rhesus*)		CcddEE		$\frac{CdE}{cdE}$ $\frac{cdE}{CdE}$	
		ccddEE	$\frac{cdE}{cdE}$		
		CCDEe		$\frac{CDE}{CDe}$ $\frac{CDe}{CDE}$ $\frac{CDE}{Cde}$ $\frac{Cde}{CDE}$ $\frac{CdE}{CDe}$ $\frac{CDe}{CdE}$	
		CcDEe		$\frac{CDE}{cDe}$ $\frac{cDe}{CDE}$ $\frac{CdE}{cDe}$ $\frac{cDe}{CdE}$ $\frac{cDE}{Cde}$ $\frac{Cde}{cDE}$ $\frac{CDe}{cdE}$ $\frac{cdE}{CDe}$	
		ccDEe		$\frac{cDE}{cDe}$ $\frac{cDe}{cDE}$ $\frac{cDE}{cde}$ $\frac{cde}{cDE}$ $\frac{cDe}{cdE}$ $\frac{cdE}{cDe}$	

Sistemul	Autorul şi anul descoperirii	Fenotip	Genotip		Observaţii
			homozigot	heterozigot	
Rh (*Rhesus*)		CCddEe		$\frac{CdE}{Cde}$ $\frac{Cde}{CdE}$	
		ccddEe		$\frac{cdE}{cde}$ $\frac{cde}{cdE}$	
		CCDee	$\frac{CDe}{CDe}$	$\frac{CDe}{Cde}$ $\frac{Cde}{CDe}$	
		CcddEe		$\frac{CdE}{cde}$ $\frac{cde}{CdE}$ $\frac{cdE}{Cde}$ $\frac{Cde}{cdE}$	
		CcDee		$\frac{CDe}{cDe}$ $\frac{cDe}{CDe}$ $\frac{Cde}{cDe}$ $\frac{cDe}{Cde}$ $\frac{CDe}{cde}$ $\frac{cde}{CDe}$	
		ccDee	$\frac{cDe}{cDe}$	$\frac{cDe}{cde}$ $\frac{cde}{cDe}$	
		CCddee	$\frac{Cde}{Cde}$	— —	
		Ccddee	—	$\frac{Cde}{cde}$ $\frac{cde}{Cde}$	
		ccddee	$\frac{cde}{cde}$		

Sistemul	Autorul şi anul descoperirii	Fenotip		Genotip	Observaţii
Lewis*	Mourant, 1946	Hematii	Salivă		Secreţie de factori ABO
		Le(a+b−)	Le(a+b−)	$Le^aLe^aLe^\beta Le^\beta$	−
		Le(a−b+)	Le(a+b+)	$Le^aLe^aLe^\beta Le^b$	+
		Le(a−b+)	Le(a+b+)	$Le^aLe^aLe^bLe^b$	+
		Le(a+b−)	Le(a+b−)	$Le^aLe^\alpha Le^\beta Le^\beta$	−
		Le(a−b+)	Le(a+b+)	$Le^a\ le^\alpha Le^\beta Le^b$	+
		Le(a−b+)	Le(a+b+)	$Le^aLe^\alpha Le^bLe^b$	+
		Le(a−b−)	Le(a−b−)	$Le^\alpha Le^\alpha Le^\beta Le^\beta$	−
		Le(a−b−)	Le(a−b+)	$Le^\alpha Le^\alpha Le^\beta Le^b$	+
		Le(a−b−)	Le(a−b+)	$Le^\alpha Le^\alpha Le^bLe^b$	+
Psi (Tja)	Landsteiner şi Levine 1927	P + Tja+		P_1P_1, P_1P_2 P_1P_3	după Sanger: sistemul P posedă 3 alele: P_1, P_2, ce condiţionează pe hematii prezenţa lui Tja, şi P_3, care condiţionează pe hematii absenţa lui P şi a lui Tja
	Levine descoperă factorul (Tja), 1951	P − Tja+		P_2P_2, P_2P_3	
		P − Tja−		P_3P_3	
Lutheran	Callander şi Race, 1945		homozigot	heterozig.	genele Lutheran sînt localizate pe acelaşi cromozom cu cele care induc caracterele de secretor şi nesecretor. Ipoteză monogenică
		Lu (a+)	Lu^a Lu^a	Lu^a Lu^b	
		Lu (a−)	Lu^b Lu^b	−	
Kell-Cellano	1946, Coombs, Maurant şi Race (Kell)	K+		KK	
		K+k+		Kk	
		k+		kk	

* După Grubb, acest sistem este condiţionat de două cupluri alelice purtate de cromozomi diferiţi: primul cuprinde Le^a şi Le^α, al doilea, Le^b şi Le^β.

Scanned with OKEN Scanner

Sistemul	Autorul și anul descoperirii	Fenotip	Genotip		Observații
			homozigot	heterozigot	
Duffy	Cutbusch, Mollison și Parkin, 1950	Fy(a+b+) Fy(a+b−) Fy(a−b+) Fy(a−b−)	— Fy^a Fy^a Fy^b Fy^b Fy Fy	Fy^a Fy^b	este determinat de o pereche de gene alele: Fy^a și Fy^b
Kidd	Allen, Diamond, Niedziela, 1951	Jk(a+b+) Jk(a+b−) Jk(a−b+)	— Jk^a yk^a Jk^b yk^b	yk^a yk^b — —	ipoteză monogenică: o pereche de alele
Diego	Layrisse, Arends și Dominguez 1955	Di (a+) Di (a−)	Dia Dia Dib Dib	Dia Dib —	ipoteză monogenică: o pereche de alele
Xg	Sanger și Race, Hamper, Tippett și alții, 1962	Xg (a+) Xg (a−)	Xga Xga Xgb Xgb	Xga Xgb —	legat de cromozomul X
Haptoglobine (Hp)	Jyle și Polonovsky, 1939, 1955 Smithies	Hp 1 — 1 Hp 2 — 1 Hp 2 — 2	Hp1/Hp1 Hp2/Hp2	Hp2/Hp1	ipoteza genică: două gene codominante

Scanned with OKEN Scanner

Sistemul	Autorul şi anul descoperirii	Fenotip	Genotip		Observaţii
			homozigot	heterozigot	
Gc	Hirschfeld, Jonsson şi Rasmuson, 1960	Gc 1—1 Gc 2—1 Gc 2—2	Gc^1/Gc^1 Gc^2/Gc^2	Gc^2/Gc^1	aceeaşi ipoteză genică ca pentru Hp.
Gm	Grubb, 1956 Harboe şi Lundeval descoperă un nou factor Gmx., 1959	Gm(a+x+) Gm(a+x—) Gm(a—x—)	Gm^{ax} Gm^{ax} Gm^{ax} Gm^a, Gm^a Gm^a, Gm Gm	Gm^{ax} Gm Gm^a Gm	ipoteza genică: multiplă alelie

BIBLIOGRAFIE

Bernstein, F. Z., *„Indukt. Abstamm. — u. Vererb. Lehre“*, 57, 1931, 113.

Callender, Sheila, R. R. Race, „Brit. med. J.“, 11, 1945, 83.

Ciovîrnache, M., H. Dumitrescu, C. Ţurai, „Probleme de antropologie“, vol. VII, 1963, 175.

Ciovîrnache, M., *Le sulcus Transversus Palmaris, chez les habitants de plusieurs villages de Montagne de la R.P.R.*, VII-ème Congrès International des Sciences Anthropologique et Ethnologiques, Moscova, 1964, 3—10.

Coombs, R. R. A., A. E. Mourant, R. R. Race, „Lancet“, 1, 1946, 264.

Cutbush, Marie, P. L. Mollison, şi Parkin, „Nature“, 1950, 165, 188.

Davenport, C. B., „Science“, 26, 1907, 589.

Idem, „Amer. Nat.“, 42, 1909, 341.

Ibidem, nr. 44, 1910, p. 641.

11

Genetica diferenţierii sexuale

Diferenţierea sexuală a apărut ca o consecinţă a fenomenului de reproducere sexuală. În sensul cel mai larg, termenul defineşte totalitatea proceselor, fenomenelor şi structurilor legate direct sau indirect de fecundaţie.

De procesul de diferenţiere sexuală se leagă şi noţiunea de sex, noţiune convenţional indusă de modul în care sînt distribuite la indivizi caracterele de diferenţiere sexuală considerate a fi masculine sau feminine. Sub acest raport, organismele se pot clasifica în:

1. Organisme unisexuate sau gonochorice, cu diferenţiere sexuală exclusiv masculină sau feminină.

2. Organisme bisexuate sau hermafrodite, care produc atît gameţi masculi, cît şi gameţi femeli. Diferenţierea lor sexuală este ambigenă.

3. Organisme pseudohermafrodite care, deşi posedă gonade şi produc gameţi de un sex, au diferenţierea sexuală ambigenă.

Considerată sub aspectul diferenţierii sexuale, lumea vie apare cu o exuberanţă de manifestări şi de forme, diversitatea făcînd dificilă şi aproximativă orice tentativă de clasificaţie. Totuşi, în acest conglomerat de forme se pot decupa „modele" ale diferenţierii sexuale.

Abordînd o schematizare în care criteriul de bază ar fi complexitatea fenomenului de diferenţiere sexuală, lumea vie oferă — de la diferenţierea sexuală a unui singur element din complexitatea structurală a organismului, la diferenţierea sexuală a unor multiple structuri — o gamă largă şi extrem de variată de forme ale diferenţierii sexuale. Dintre acestea, principalele „modele" în jurul cărora se brodează multiple aspecte sînt:

1. *Diferenţierea sexuală a unui singur element din complexitatea structurală a unui organism — gametul.* Un întreg grup

Scanned with OKEN Scanner

de organisme prezintă ca unic element de diferenţiere sexuală celule capabile a se uni între ele, numite gameţi. În forma izogamă, gameţii sînt identici, deosebindu-se doar ca potenţial sexual; gametul mascul este activ, iar gametul femel pasiv (alge, ciuperci, infuzori). În forma anizogamă, gameţii masculi se deosebesc de cei femeli prin mai multe elemente: volum, formă, mişcare, ca la plantele inferioare, unele infuzorii, unii viermi etc. Anizogamia, apărută în unele cazuri ca fenomen unic de sexualizare, devine fenomen constant şi universal la metazoare, unde constituie unul dintre multiplele elemente ale diferenţierii sexuale.

2. *Diferenţierea sexuală a unei singure structuri din complexitatea structurală a organismului — gonada.* Acest model presupune, alături de diferenţierea gameţilor, şi diferenţierea unor organe care-i produc, numite gonade. Aceste organe sînt: testiculul pentru gameţii masculi la animale şi anteridia la plante şi ovarul pentru gameţii femeli la animale şi oogonia la plante. Structura gonadelor poate fi simplă sau complexă. În general, în cadrul acestui „model" ea este destul de rudimentară.

Distribuţia gonadelor se poate face după următoarele posibilităţi:

a) gonade diferite, masculine şi feminine, pe acelaşi individ, ca în cazurile de hermafroditism întîlnit la unele alge, unele ciuperci, unele celenterate etc.;

b) gonade diferite pe indivizi diferiţi (gonochorism), distingîndu-se astfel indivizii masculi şi femeli, ca la unele alge, majoritatea viermilor nemerţieni, unele specii de hidră etc).

În afară de sexualizarea gonadică, chiar atunci cînd sexele sînt separate, nu există nici un fel de altă diferenţiere sexuală. Expulzarea gameţilor se face prin ruperea peretelui gonadei sau prin desprinderea lor.

3. *Diferenţierea sexuală a unor structuri legate de evacuarea gameţilor din gonadă — gonaductele.* În esenţă, un astfel de „model" presupune existenţa unui canal care leagă gonada cu exteriorul. Canalul poate fi simplu sau alcătuit din mai multe segmente, cu anumite particularităţi pentru gonada masculină şi altele pentru cea feminină.

Scanned with OKEN Scanner

Un altfel de „model" îl întîlnim la majoritatea plantelor (unele alge, unele briofite, unele criptogame vasculare și unele fanerogame) și la foarte multe animale (majoritatea viermilor, unele gasteropode, tunicieri, unii pești și la reptile).

4. *Diferenţierea sexuală a altor elemente decît organele sexuale*. Un foarte mare număr de organisme vii posedă — alături de diferenţierea gameţilor, gonadelor și organelor genitale — și alte elemente care, fiind dependente de precedentele și aservite sexualităţii, aparţin diferenţierii sexuale. Totalitatea acestor elemente definesc dimorfismul sexual. Formele pe care le îmbracă acest fenomen sînt extrem de variate; ele privesc talia, forma, coloraţia, comportamentul și multe alte particularităţi ale organismelor vii.

Numai rareori dimorfismul sexual poate interesa un singur element. Este cazul ursului brun, la care deosebirea constă în talia mai mare a masculului decît a femelei, și a speciei *Lampyrus spini*, la care masculul este negru, iar femela, galbenă. De cele mai multe ori însă, dimorfismul sexual cuprinde mai multe elemente (dimorfism complex).

În unele cazuri, de exemplu, la pești și batracieni, dimorfismul este foarte atenuat și de aceea deosebirea dintre masculi și femele nu poate fi observată de la prima vedere. În alte cazuri, dimorfismul poate fi însă foarte accentuat, ca la vertebratele superioare, păsări și mamifere, fără a atinge însă intensitatea excesivă de la viermi sau insecte.

La mamifere cele două sexe sînt adesea puţin distincte, ca la feline, canide, iepuri etc. La unele specii ale aceleiași familii dimorfismul poate fi destul de accentuat, ca, de pildă, la leu.

La primate, dimorfismul este, de asemenea, puţin marcat. Astfel, orangutanul mascul se deosebește de femelă doar prin talie, păr lung și des, faţa hirsută, saci vocali enormi, agresivitate. La om, dimorfismul sexual, deși cuprinde multiple elemente, este atenuat.

În general, dimorfismul sexual nu se realizează, cel puţin în totalitatea sa, decît începînd de la vîrsta reproducerii. El lipsește sau este rudimentar la indivizii tineri. Deseori dimorfismul sexual ia un caracter periodic, apărînd numai în sezonul de rut.

Scanned with OKEN Scanner

Cauzele diferențierii sexuale

Mecanismul diferențierii sexuale este una dintre problemele cele mai dezbătute ale biologiei. Teoriile elaborate în acest sens se pot împărți în trei mari grupe, după cum determinismul sexual este anterior, posterior sau simultan procesului de fecundație.

Teoria *progamică* susține că diferențierea sexuală precede fecundația. Ea se sprijină pe unele argumente. Astfel, este posibil să se determine nașterea de indivizi aparținînd, aproape în exclusivitate, unui sex prin diferite influențe exercitate asupra organismelor parentale în timpul gametogenezei. De exemplu, pensarea cloacei la broasca femelă împiedică eliminarea la timp a ovulelor, ducînd astfel la o hipermaturizare a lor. Fecundarea acestor ovule face să crească procentul indivizilor masculi proporțional cu durata hipermaturizării. De asemenea, injectarea iepuroaicelor cu lecitină provoacă o creștere a numărului de purtători ai unuia dintre sexe.

Teoria *epigamică* consideră fenomenul de diferențiere sexuală ca posterior fecundației. În acest caz, factorii de mediu ar avea rolul de a dirija sensul sexualizării. Sînt incriminați factorii alimentari, termici, de umiditate, de presiune etc.

Teoria *singamică* susține că determinismul sexual este hotărît în momentul amfimixiei gametului mascul și femel. Ea și-a găsit o puternică argumentare în studiul citologic care, la majoritatea organismelor, a putut demonstra că determinismul sexual este în funcție de cromozomii participanți la actul amfimixiei. Fenotipul sexual ar fi, în acest caz, o simplă expresie a genotipului.

În timp ce la animalele și plantele hermafrodite toți cromozomii lotului celular sînt asemănători, la speciile cu sexe separate cariotipul este lipsit de omogenitate. De obicei, doi sau mai mulți dintre cromozomi au un aspect particular, fiind denumiți heterocromozomi, spre deosebire de restul cromozomilor care se numesc autozomi. Convențional, autozomii se notează cu litera A, iar heterocromozomii, la rîndul lor diferiți între ei, cu literele X, Y, Z, W.

Scanned with OKEN Scanner

În general, heterocromozomii sînt formați din două zone: una lungă, omologă, alta scurtă, diferențială. La tipurile evoluate segmentul diferențial est relativ mai lung și heterocromatic. El poate fi unic sau dublu, separat printr-un segment omolog (ca la unele specii din genul *Drosophila*) (Krivshenko).

De obicei, autozomii sînt eucromatici, dar la unele specii pot fi, în parte sau în întregime, heterocromatici. Din această cauză sînt confundați uneori cu heterocromozomii.

Autozomii din celulele unui organism gonochoric sînt întotdeauna perechi, spre deosebire de heterocromozomi, care pot fi: solitari (de exemplu modul *Protenor*, cu masculi XO, sau modul fluture, cu femele ZO); grupați pereche (de exemplu, modul *Ligoeus*, cu masculi XY și femele XX, sau modul pasăre, cu masculi ZZ și femele ZW); multipli (de exemplu masculi X_1, X_2 Y la diferite specii de *Mantis* etc.).

Grupările pot fi simetrice, adică alcătuite din același fel de heterocromozomi (XX, ZZ), sau disimetrice, formate din heterocromozomi diferiți (XY, ZW) sau cu un heterocromozom lipsă (XO, ZO, X_1, X_2, O etc.). Absența heterocromozomului se consemnează prin O. De obicei lipsește cromozomul Y. Dispariția lui în decursul evoluției s-a făcut, probabil, prin translocare pe X sau pe un autozom.

Grupările heterocromozomiale sînt specifice sexului. Sexul purtător de grupări simetrice se numește sex homogametic, deoarece, după cum vom vedea, dă naștere la gameți de același fel. Sexul disimetric produce gameți diferiți, de aceea se numește sex heterogametic.

Specificitatea de sex a grupărilor heterocromozomiale în lumea vie se poate prezenta sub diferite modele:

1. Mascul heterogametic, femelă homogametică (tipul insectă sau tipul drosofilă), model care se poate prezenta cu variantele: modul *Ligoeus* (mascul XY, femelă XX); modul *Protenor* (mascul XO, femelă XX). Din acest tip fac parte numeroase plante: *Melandrium, Cannabis, Asparagus, Mercurialis* etc., și animale: nematode, echinoderme, arahnide, unii acarieni, miriapode, toate insectele afară de lepidoptere și de tricoptere, unii pești, unii amfibieni și mamiferele. Omul aparține următorului model: mascul 2A + XY, femelă 2A + XX.

Scanned with OKEN Scanner

2. Mascul homogametic, femelă heterogametică (tipul *Abraxas*), model cu variantele: modul pasăre (mascul ZZ, femelă ZW) și modul fluture (mascul ZZ, femelă ZO). Din acest model fac parte, dintre animale, lepidopterele, trichopterele, unii pești, unele amfibii și păsări, iar dintre plante, genul *Fragaria.*

3. Masculi cu cromozomi sexuali multipli: X_1X_2Y (specii de *Mantis* și de ortoptere, *Drosophila miranda* etc.), $X_1X_2X_3Y$ (*Sineaea diadematа, Prolabia arachidis*), X_1X_2O (majoritatea araigneelor, unii ascarizi etc.), $X_1Y_1Y_2$ (*Drosophila americana* etc.).

4. Grupe incerte: brahiopode, scorpioni, cefalopode, reptile.

Faptul că celulele organismului mascul se deosebesc de cele femele prin modelul heterocromozomial ne face să spunem că heterocromozomii sînt cromozomi de sex, gonozomi sau cromozomi sexuali. Numeroase dovezi vin să argumenteze rolul lor sexual.

La mamifere, și mai ales la om, studiile asupra cromozomilor sexuali sînt suficient de avansate pentru a se putea afirma cu certitudine că cromozomul Y este masculinizant, iar heterocromozomul X, feminizant. Prezența unui cromozom Y alături de un cromozom X (XY) dezvoltă întotdeauna un testicul și deci un mascul. Prezența unui gonozom Y alături de doi sau mai mulți cromozomi X este totdeauna dominantă și dezvoltă un testicul, chiar dacă el este anormal structuralizat. Existența a doi gonozomi X este necesară pentru a da naștere unui ovar care feminizează activ organismul. Lipsa unui gonozom (XO) împiedică sexualizarea prin lipsa gonadei.

La unele grupuri de viețuitoare gonozomul Y este feminizant (ca de exemplu la viermele de mătase și la axolotl, la care unele femele sînt de tip XY). La drosofilă, și probabil la toate viețuitoarele cu mecanisme evoluate de determinare a sexului, indivizii YY nu sînt viabili. În schimb la axolotl, femelele pot fi YY și viabile.

La *Drosophila melanogaster* (Brosseau, 1960) cromozomul Y nu pare să joace un rol direct în determinarea fenotipului sexual. Cariotipurile cu XO sînt masculi, iar indivizii cu cariotip XXY sau XXYY sînt femele. În acest caz, cromozomul Y pare să intervină însă în formarea spermatozoizilor, deoarece masculii XO sînt sterili (Stern, 1938).

Scanned with OKEN Scanner

Există numeroase organisme la care specificitatea sexuală a gonozomilor prezintă variații sau incertitudini. Astfel, la peștele *Xiphophorus maculatus* cromozomii au valori sexualizante foarte diferite. De pildă, W este puternic feminizant; X este feminizant; Y — masculinizant; Y′ — puternic masculinizant. De asemenea, el poate prezenta trei rase diferite: o rasă cu masculi XY și femele XX; o rasă cu masculi XY′ și femele XX, și o rasă cu masculi YY și femele WY. La *Melandrium* cromozomul Y are o regiune feminizantă și cel puțin două segmente masculinizante. La reptile, în ciuda studiilor efectuate, nu se știe cu certitudine care este sexul heterocromatic, nu se cunoaște gruparea XY la mascul și nici XX la femelă.

Dacă în majoritatea cazurilor heterocromozomii sînt determinanții sexuali, uneori ei își împart acest rol cu autozomii. La *Drosophila melanogaster* cromozomul X este feminizant, în vreme ce autozomii sînt masculinizanți (mai ales cromozomii III și IV). O grupare XX domină un lot diploid de autozomi și produce o femelă, în timp ce un singur X este dominat de autozomi, ceea ce determină formarea unui mascul. Doi cromozomi X alături de trei loturi autozomale determină indivizi intersexuați (Fung, 1960 și Pipkin, 1959). Aceasta ne permite să afirmăm că la unele specii determinismul sexual este rezultatul unui anumit echilibru între autozomi și heterocromozomi.

Rolul autozomilor în determinismul sexual la mamifere și om pare bine precizat: progonada, care ulterior — prin intervenția heterocromozomilor — va edifica gonada, este determinată autozomal; ea există în formulele cromozomiale deficitare (XO). Hipofiza, glandă care dirijează funcția gonadei, este de asemenea creată autozomal. Unele anomalii autozomale (trisomiile 21, 18 sau 13) sînt însoțite de tulburări ale procesului de sexualizare.

Toate acestea permit să se ateste rolul autozomilor în sexualizare și să se precizeze atribuțiile heterocromozomilor ca elemente de orientare a dezvoltării embrionare spre sexul masculin sau feminin, operînd în anumite stadii ale dezvoltării embrionare (White, 1964).

Numărul autozomilor și gruparea gonozomială, care împreună alcătuiesc lotul cromozomial, sînt constante și caracteristice pen-

Scanned with OKEN Scanner

tru o specie dată. Începînd cu celula-ou, toate celulele somatice ale unui organism vor poseda și transmite la descendenți același tip de formulă cromozomială, care include același tip de sexualizare gonozomială. În felul acesta, toate celulele organismului poartă pecetea sexului cromozomial — masculin sau feminin — după sexul zigotului. Fac excepție de la această regulă doar celulele sexuale mature, gameții, care — spre deosebire de celulele somatice — nu posedă decît jumătate din lotul cromozomial. Fenomenul de înjumătățire se datorește unei anumite particularități a diviziunii celulelor sexuale (vezi Bazele celulare ale eredității).

Diviziunea reducțională interesează atît atozomii, cît și gonozomii. În separarea gonozomilor rezidă premisele mecanismului de determinare a sexului.

Deoarece aspectul gonozomial al celulelor sexuale feminine nu este același cu cel al celulelor sexuale masculine, gameții care se nasc nu sînt identici. Astfel, la tipul insectă celulele sexuale imature ale femelei, cu formula cromozomială 2A+XX, vor da gameți exclusiv de tipul A + X. La mascul, gameții proveniți din spermatogonii cu gonozomi disimetrici (XY sau XO) vor fi de tipul A + XA + YA + O.

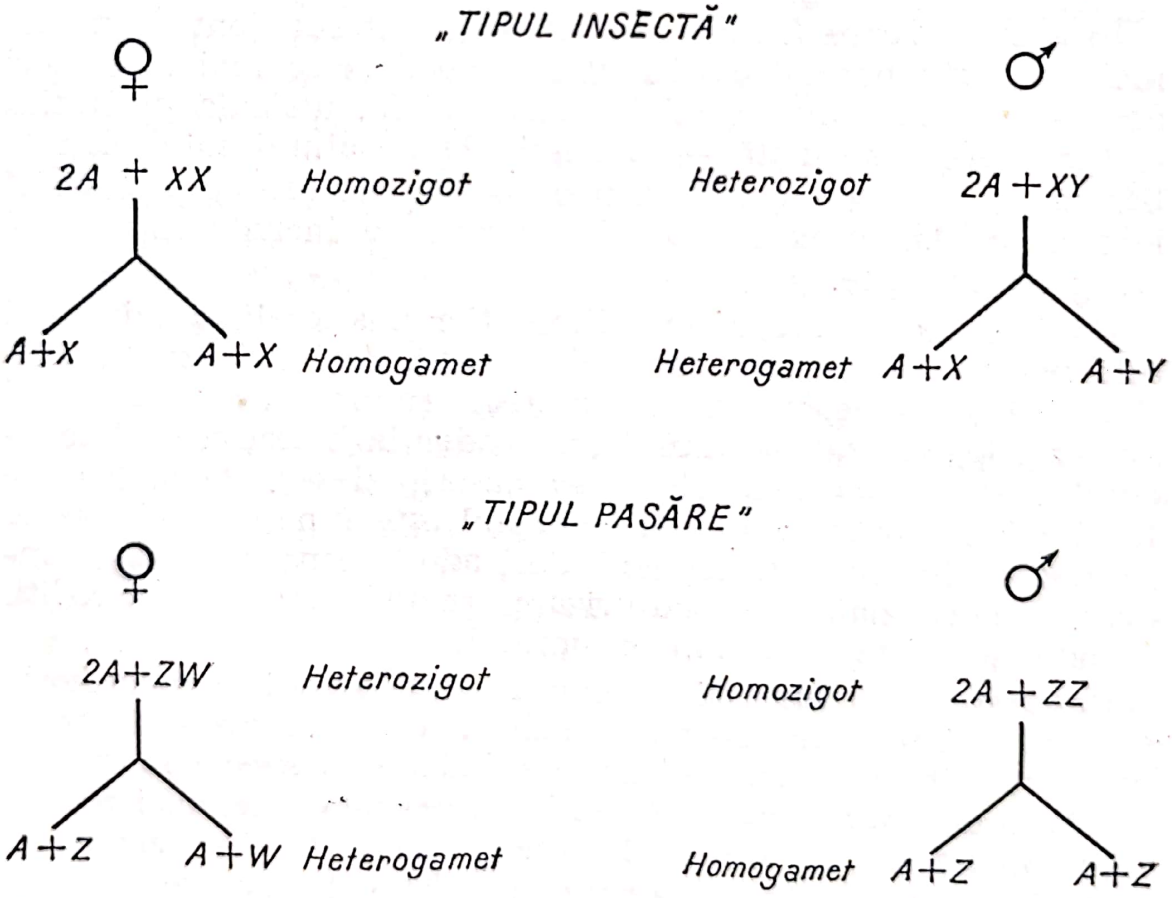
La tipul pasăre, gameții masculi, provenind din spermatogonii 2A + ZZ, vor fi toți de același fel, adică A + Z. Gameții femeli proveniți din ovogonii 2A + ZW sau 2A + ZO vor fi A + ZA + W sau A + O.

Procesul de fecundație reface lotul cromozomial caracteristic speciei, fiecare gamet aducînd cu el jumătate din acest lot și — în același timp — stabilește sexul gonozomial sau genetic al viitorului organism. La tipul insectă heterogameții (gameții masculini) sînt cei care definesc sexul genetic, deoarece toți gameții femeli sînt identici (A + X). Așadar, un gamet femel A + X se poate uni cu un gamet mascul fie de tipul A + X (în care caz rezultă un cariotip 2A + XX, caracteristic femel), fie cu un gamet mascul de tipul A + Y (rezultînd 2A + XY, deci un mascul), fie cu un gamet de tipul A + O, rezultînd 2A + XO, deci un mascul. Pentru tipul pasăre fenomenul este asemănător, cu singura deosebire că gameții femeli, fiind heterogameți, impun sexul genetic.

Scanned with OKEN Scanner

Disjuncţia gonozomilor în timpul meiozei şi refacerea cariotipului în procesul amfimixiei sînt, aşadar, factorii care dictează diferenţierea sexuală gonozomială a organismului gonochoric.

În cadrul diferenţierii sexuale, sexul gonozomial al celulelor sau al gameţilor nu constituie, în marea majoritate a cazurilor, decît unul dintre multiplele elemente care, în ansamblul lor, constituie complexul fenomenelor ce caracterizează diferenţierea sexuală. Realizarea celorlalte elemente de diferenţiere sexuală ale unui organism gonochoric se face prin prelucrarea unui organism neutru sub aspect sexual, dar cu reactivitate ambovalentă, capabil de a se sexualiza masculin sau feminin, în raport cu factorii sexualizanţi care-l prelucrează.



55. Formarea gameţilor la cele două modele principale de cariotip sexual

De fapt, în procesul de realizare a gonochoriei, neutralitatea sexuală se confundă cu un gen de hermafroditism morfofuncțional, pe care în cursul ontogeniei factorii sexualizanți îl orientează să dezvolte predominent elementele caracteristice unui sex. Fenomenul are aspectul unui proces dublu, de stimulare și de inhibiție, efectuat simultan. În cursul dezvoltării masculine, de pildă, factorii masculinizanți inhibă elementele feminine și le stimulează pe cele masculine ale organismului hermafrodit.

Hermafroditismul, ca etapă inițială a gonochorismului, este constant regăsit în ontogenia oricărui organism cu sexe separate. Gonadele unisexuale se structuralizează pe baza unor elemente hermafrodite ale gonadei primordiale. Gonoforile interne, înainte de a fi masculine sau feminine, sînt bisexuate. La fel, sinusul urogenital și organele genitale externe.

În cazul în care factorii sexualizanți sînt suficient de puternici, la adult hermafroditismul rămîne de cele mai multe ori doar sub forma unor vestigii, ca, de pildă, utricula prostatică și hidatoida pediculată — vestigii ale canalului müllerian la bărbat — sau canalul lui Gartner — vestigiu al ductului Wolff la femeie. Ambosexualitatea hormonală se include în aceeași categorie de fapte.

Dacă la unele organisme diferențierea sexuală a adultului este perfect unisexuată, la altele adulții, deși unisexuați, continuă să păstreze un hermafroditism rudimentar, însă totuși evident. Este cazul organului lui Bidder la batracieni, al testiculului atrofic la femelele unor păsări, al gonadelor hermafrodite (din care însă numai testiculul este funcțional) la unele crustacee etc. La ciclostomieni, deși adulții sînt unisexuați, indivizii tineri, înainte de maturizarea sexuală, sînt hermafroditi, avînd ovare și testicule bine structuralizate.

Realizarea diferențierii sexuale a unui organism gonochoric se face mai precoce sau mai tardiv în cursul dezvoltării ontogenetice, viteza de sexualizare variind de la specie la specie. La fluturele *Palingenia*, diferențierea sexuală a femelei începe încă din stadiul de nimfă. La efemeride și la fluturele-păun, maturizarea sexuală este terminată încă de la naștere. La om, desăvîrșirea sexuală este relativ tardivă, apărînd abia către

Scanned with OKEN Scanner

sfîrşitul primei treimi a existenţei sale, la 18, 20 de ani. În general, desăvîrşirea sexuală coincide cu vîrsta reproducerii.

Procesul de diferenţiere sexuală începe o dată cu amfimixia, dar ajunge la plenitudinea desăvîrşirii sale treptat, din aproape în aproape. Graficul evoluţiei sale nu reprezintă însă o linie uniform ascendentă. Procesul se desfăşoară în salturi, în etape succesive, separate prin intervale lungi. Fiecare etapă ocupă un moment precis pe diagrama evoluţiei ontogenetice. Durata sa este de obicei scurtă, dar plină de evenimente (remanieri) morfofuncţionale. Etapele se succed şi se condiţionează reciproc. O etapă nu poate începe dacă precedenta nu a fost desăvîrşită. În general, structurile sexuale diferenţiate în perioada embriogenezei sînt ireversibile.

Diferenţierea sexuală apare iniţial pe un organism neutru şi cu fiecare etapă efectuată se diferenţiază sexual un anumit sector al organismului respectiv. În rest, neutralitatea sexuală se menţine. Procesul continuă din etapă în etapă, pînă la atingerea normei de diferenţiere sexuală caracteristică speciei. Pentru unele specii, norma se opreşte la stadiul de diferenţiere gametică, pentru altele, diferenţierea sexuală presupune şi structuralizarea unei gonade unisexuale, la alte specii ea impune diferenţierea gonoforilor interne etc., procesul cel mai complex de diferenţiere sexuală fiind acela în care, în afara organelor genitale, se diferenţiază şi alte structuri din organism.

Aşadar, procesul de sexualizare este un proces sumativ, norma deplinei sexualizări fiind realizată prin cumulul elementelor diferenţiate în timpul etapelor parcurse.

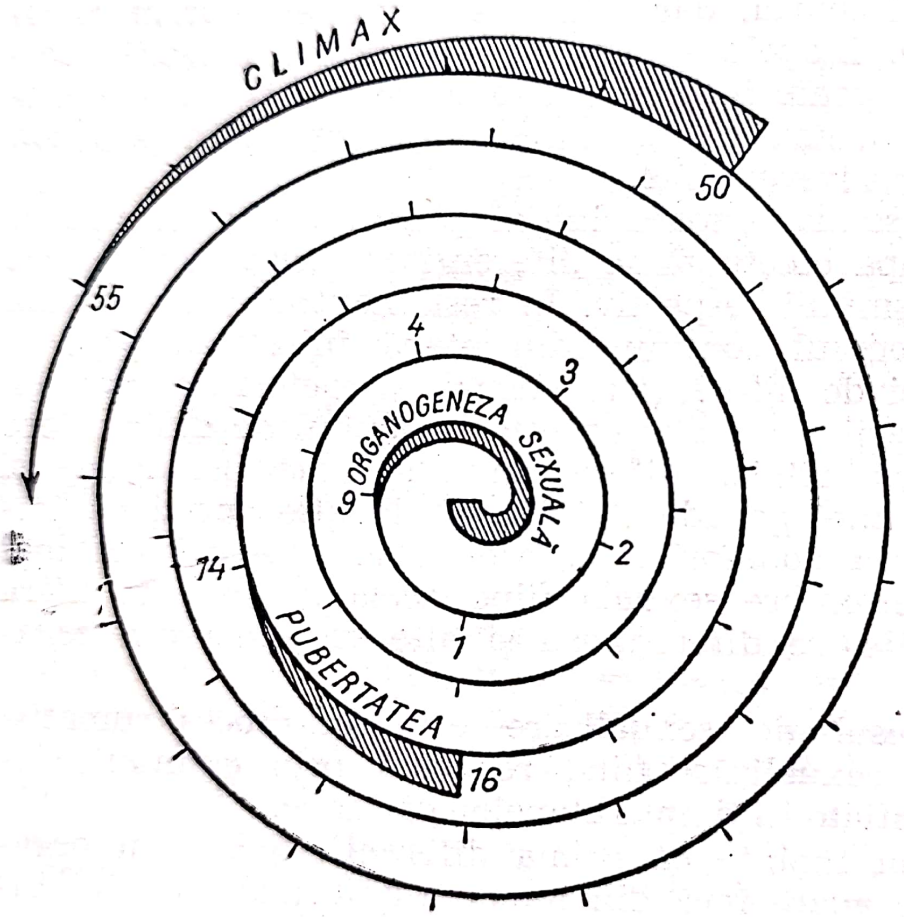
Am văzut mai înainte că prima diferenţiere a unui organism gonochoric apare încă din momentul formării noului individ, din momentul amfimixiei. Structura cromozomială a zigotului îl consacră din capul locului ca mascul sau ca femelă. Dar, deşi organismul este croit genetic ca unisexuat, evoluţia şi-o începe ca hermafrodit. Pe parcursul dezvoltării ontogenetice, schema hermafrodită va dezvolta cu precădere elementele sale feminine sau masculine. Sexul unic apare ca o dominantă a unora dintre factorii aflaţi la un moment dat în echilibru ambosexual. În condiţii normale, toate elementele de sexualizare gonochorică se dezvoltă în consens cu sexul

Scanned with OKEN Scanner

genetic, ca și cum factorii genetici ar induce sensul dezvoltării unisexuate al viitorului individ.

Modul în care factorii genetici realizează diferențierea sexuală este binecunoscut la vertebratele superioare și mai ales la om.

ADN-ul cromozomial este factorul informator de structuralizare și de organogeneză a elementelor constitutive ale viito-



56. Situarea în timp a principalelor etape de sexualizare la om

rului organism. La om sînt necesari 44 de autozomi și un heterocromozom X pentru ca produsul să fie viabil și să-și desăvîrșească ontogeneza. Pe baza acestei structuri cromozomiale se formează și prima formațiune sexuală a organismului, progonada, care este însă hermafroditică. Menținerea ei ca structură și evoluția sa către o gonadă unisexuată nu pot avea

însă loc decît în prezenţa unei formule cromozomiale complete.

În cazul unei formule 44A + XX, progonada dezvoltă invariabil un ovar, iar în cazul formulei 44A + XY, un testicul. Cuplul XX conţine deci factorii informatori necesari pentru a determina dominanţa şi dezvoltarea elementelor feminine ale progonadei hermafrodite, iar gonozomul Y decide dominanţa elementelor masculine şi dezvoltarea unui testicul. Aşadar, gonozomii X sînt ovarogenetici, iar gonozomul Y este orhigenetic.

Rolul gonadogenetic al heterocromozomilor este demonstrat şi de faptul că alteraţiile lor — deleţii, translocaţii, mutaţii genice — scad cantitatea de informaţie gonadostructurală, determinînd astfel formarea unei gonade insuficient edificate. Aşa apar disgeneziile gonadale.

Se pare că la organismele superioare rolul direct al heterocromozomilor în procesul de sexualizare se limitează la formarea unei gonade unisexuate, normal structuralizată, şi înzestrată cu bateria enzimatică necesară funcţiei sale. În continuare, procesul de sexualizare este preluat, prin hormonii săi, de gonadă, prerogativ pe care-l va exercita în tot restul evoluţiei ontogenetice.

Etapa ulterioară de sexualizare gonochorică este efectuată de gonada embrionară. Rolul activ al testiculului embrionar a fost demonstrat de lucrările, devenite clasice, ale lui Jost (1957—1958). Prezenţa lui este necesară pentru a determina gonoforele interne hermafrodite (canalele lui Wolff şi Müller, paralel şi egal dezvoltate pe o anumită perioadă a evoluţiei embrionare) să se dezvolte unisexuat, iar sinusul urogenital şi organele genitale externe, de asemenea cu structură şi potenţialităţi hermafrodite, să se masculinizeze.

Rolul masculinizant al testiculului embrionar pare să fie efectuat de două substanţe chimice eliberate în momente diferite ale embriogenezei:

1. „Principiul antimüllerian", eliberat de structurile tubulare, necesar inhibării ductelor mülleriene şi stimulator al dezvoltării segmentelor caracteristice gonoforelor interne masculine din ductele wolffiene;

Scanned with OKEN Scanner

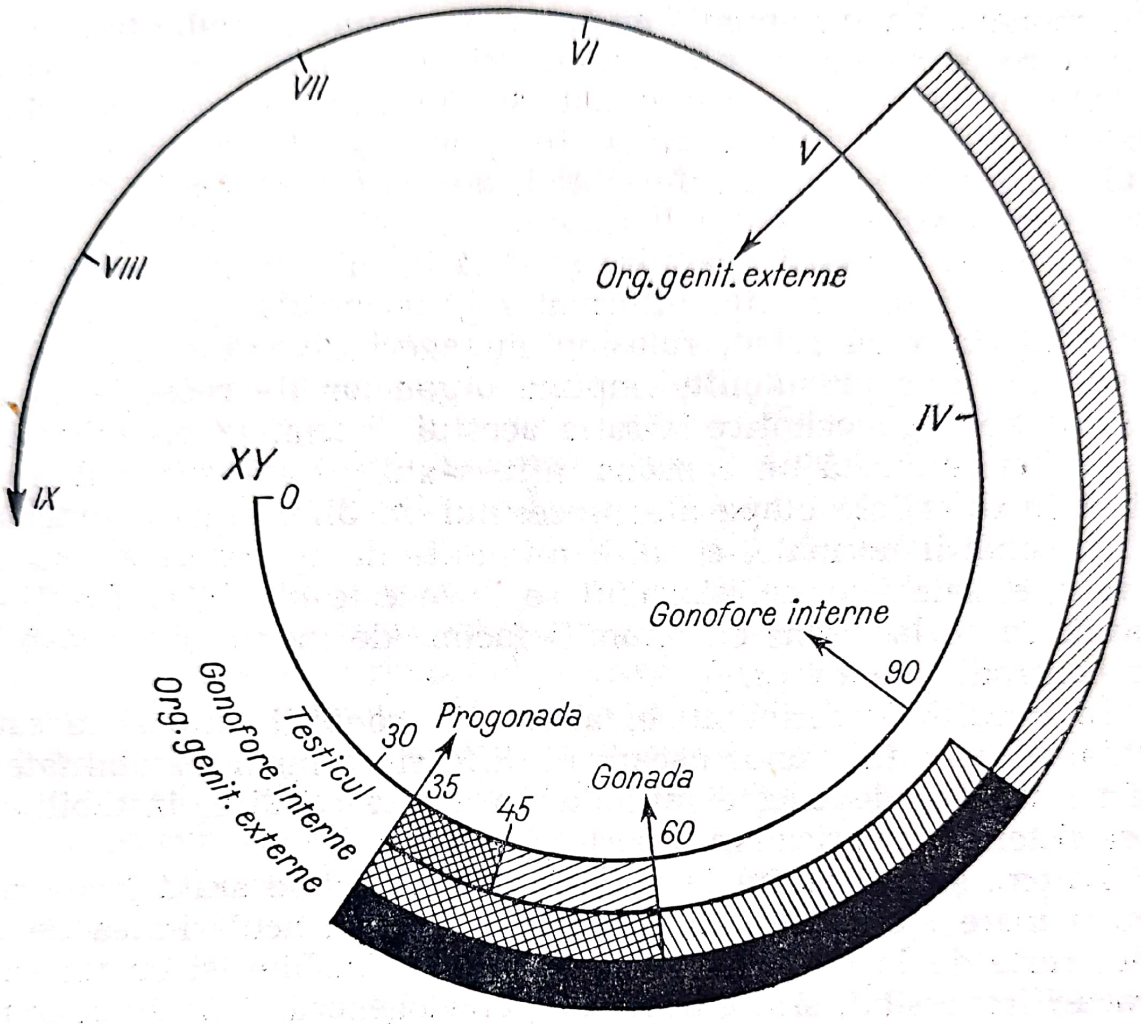
2. „Principiul virilizant", eliberat de țesutul embrionar Leydig, necesar masculinizării sinusului urogenital și a organelor genitale externe. Deși „principiile" testiculului embrionar nu sînt izolate, realitatea lor este susținută de faptul că distrugerea testiculului embrionar suspendă diferențierea masculină a tractului genital. Un rol similar, dar feminizant, jucat de ovarul embrionar, nu se cunoaște. Se pare că sexualizarea feminină a organelor genitale se efectuează pasiv, fără a necesita o intervenție activă a ovarului embrionar.

Castrarea unui embrion în perioada în care organele genitale sînt încă nediferențiate sexual duce invariabil la edificarea sa feminină, indiferent de sexul genetic (XX sau XY) al embrionului. Fenomenul pare să fie o consecință a homozigoției care caracterizează femela speciei om. Deși un singur cromozom X alături de autozomi nu este capabil să edifice o gonadă, el poate totuși să determine predominența elementelor feminine ale schiței inițial hermafrodite. Un asemenea fenomen are loc în cadrul sindromului Turner, caracterizat printr-o formulă cromozomială 2A + XO. Un fenomen similar, dar de sens invers, se produce la păsările femele, care în mod normal au alături de ovarul funcțional din stînga și un testicul atrofic în dreapta. Castrarea ovarului duce la dezvoltarea testiculului. În cazul păsărilor, homozigoția este caracteristică masculului (2A + ZZ).

Gonada embrionară își epuizează rolul o dată cu desăvîrșirea structuralizării gonochorice a organelor genitale. Etapa organo-genetică a structurilor genitale are ca element efector „principiile" eliberate de gonada embrionară. Parcurgerea acestei etape duce la instalarea unor noi elemente de diferențiere unisexuală. În rest, organismul continuă să rămînă nediferențiat.

Abia la pubertate are loc o nouă etapă activă de sexualizare, care este opera hormonilor secretați de gonada puberă. Hormonii gonadici au specificitate de sex; ovarul secretă estrogeni și progesteronă, iar testiculul, testosteronă. Sub acțiunea lor, țesuturile, pînă atunci nediferențiate sexual, își profilează sexualizarea în sens masculin sau feminin, în funcție de natura hormonilor recepționați. Se desăvîrșește astfel ultima etapă de diferențiere unisexuată a organismului.

Scanned with OKEN Scanner



57. Embriogeneza structurilor sexuale de bază

Recapitulînd pe scurt rolul factorului genetic în procesul de diferenţiere unisexuată, constatăm că el îşi desfăşoară acţiunea programatic, după o schemă care evocă un mecanism cibernetic.

Astfel, într-o primă etapă, ADN-ul gonozomial trimite progonadei informaţia de structuralizare a unei gonade embrionare unisexuate. Gonada embrionară o dată structuralizată devine ea însăşi organ programatic şi emite informaţii de sexualizare unică receptorilor specifici (organele sexuale interne şi externe în stare hermafrodită). Mesagerii săi sînt „principiile" gonadei embrionare. Datorită lor se epuizează cea de-a doua etapă a diferenţierii unisexuate. A treia etapă o constituie sexualizarea

hormonală. La un anumit moment, și anume la pubertate, gonada redevine organ programatic și transmite codificat țesuturilor informația sa de sexualizare unică. Mesagerii săi sînt hormonii gonadici specifici, iar receptorii, țesuturile organismului, care, sub acțiunea informației, dezvoltă caracterele sexuale specifice sexului dictat de hormoni.

Din clipa formării zigotului și pînă în momentul desăvîrșirii diferențierii unisexuate, informația gonozomială, prelucrată în diferite stații de releu, folosind mesageri diverși și acționînd după un orar prestabilit, impune organelor de recepție tipul diferențierii gonochorice. Grație acestui sistem, la organismele gonochorice există un consens între sexul genetic și sexul realizat în diferitele etape ale procesului de diferențiere sexuală.

În condiții normale, condiții asimilate de specie de-a lungul evoluției sale istorice, sistemul se dovedește stabil, el funcționează în același sens cu anumiți factori de mediu și, probabil, în contradicție cu alții.

În condiții experimentale, alteori în condiții patologice sau chiar în condițiile unor ușoare modificări de mediu, stabilitatea sistemului se dovedește falibilă. În aceste condiții, instabilitatea sistemului variază în raport cu specia.

La om, și în general la mamifere, sistemul se arată înzestrat cu o mare stabilitate, care prezintă însă particularitatea de a descrește de la o etapă la alta. Cele mai stabile, și cu un caracter ireversibil, sînt etapele de gonadogeneză și de structuralizare a organelor genitale. Numai factori de mediu excepționali pot modifica unele amănunte moleculare ale cromozomilor (mutații) și numai accidente ale meiozei sau ale primelor diviziuni celulare ale oului sînt în măsură să modifice formula cromozomială, fie sub aspectul ei numeric (aneuploidiile, mozaicismele), fie sub aspectul unor modificări morfologice ale cromozomilor (deleții, translocații, izocromii). Rezultatul acestor modificări este opus informației cromozomiale (autozomală sau gonozomială), cu repercusiuni asupra structuralizării gonadei, și deci asupra întregului proces de sexualizare.

Variatele și multiplele forme de disgenezie gonadală, cum sînt: agonadismul, displazia și hipoplazia gonadică, testicului feminizant, hermafroditismul vera, sindromul Klinefelter, sindromul Stein-Leventhal, mongolismul etc. corespund unor ast-

Scanned with OKEN Scanner

fel de tulburări. Incidența rară a acestor tulburări demonstrează stabilitatea sistemului sub aspectul modificărilor în însăși formula cromozomială.

La mamifere sexualizarea embrionară, etapă controlată de hormonii gonadei embrionare, se face, de asemenea, după un sistem stabil. Ca și în cazul precedent, tulburările de sexualizare ale organelor genitale sînt rare, dar posibile. Invadarea organismului fetal cu hormoni heterosexuali (materni sau exogeni) în perioada organogenezei structurilor genitale poate determina sexualizarea lor, în sens opus sexului gonadal. Este cazul pseudohermafroditismelor. O dată edificat însă structural, sexul organelor genitale nu mai poate fi modificat.

Sexualizarea pubertală, deci sexualizarea hormonală pubertală, este însă relativ mai ușor de influențat. Multiplii factori de mediu (infecții, intoxicații, traumatisme, carențe etc.) pot leza cu mai multă ușurință gonada sau sistemele care o conduc (hipofiza etc.), provocînd aberații ale sexualizării și uneori apariția fenomenelor de intersexualitate. Administrarea terapeutică de hormoni heterosexuali poate provoca, în raport cu doza, apariția unor elemente ale sexului opus, care să le substituie pe cele ale sexului genetic.

În toate aceste cazuri, stabilitatea sistemului este dovedită prin comportamentul său la acțiunea unor factori patologici. Cercetările experimentale au dus la rezultate similare și ne permit, în plus, să tragem unele concluzii de amănunt cu privire la procesul de sexualizare.

Un exemplu de felul cum anumiți factori intervin în procesul de sexualizare, în raport cu etapele dinamice ale procesului, îl constituie fenomenul de *free-martinism* constatat la bovidee. În sarcinile gemelare cu produși heterosexuali, embrionul mascul influențează totdeauna dezvoltarea sexuală a celui femel, tulburînd formarea organelor genitale femele și favorizînd pe cele mascule, dacă între gemeni există o anostomoză vasculară (prin placentă). Fenomenul de contrariere este atît de profund, încît chiar progonada embrionului femel (sub aspect genetic) este dirijată să dezvolte elemente exclusiv masculine sau intersexuate. În condiții de *free-martinism* produsele masculinizante ale embrionului mascul se dovedesc dominante, impunînd sensul dezvoltării embrionului genetic femel (Lillie, 1917).

În experienţele provocate de *free-martinism* prin parabioză la axolotl s-a constatat că din 29 de perechi heterosexuale cuplate, în 23 de cazuri partenera femelă a fost masculinizată, în patru cazuri masculii au fost parţial feminizaţi, iar într-un singur caz a avut loc o transformare reciprocă. În 1942, Humphrey cercetează 45 de cupluri heterosexuale şi găseşte că, în toate cazurile, organele genitale femele erau masculinizate.

Experienţele de castrare şi grefare de gonadă heterosexuală sau de administrare de hormoni heterosexuali făcute la reptile, batracieni, peşti, mamifere au furnizat date asemănătoare; hormonii masculini au o puternică acţiune masculinizantă, împiedicînd acţiunea de diferenţiere sexuală feminină. În 1932, Witschi stabileşte existenţa unui raport cantitativ între substanţa eliberată de gonade şi gradul transformării pe care o produce. În nici una dintre experienţele efectuate nu s-a constatat însă modificarea gonadei. Faptul că în *free-martinism* această modificare poate exista tinde să demonstreze că efectul factorilor contrarianţi ai sexualizării depinde de momentul intervenţiei lor. Acţiunea dominantă a gonadei masculine asupra celei feminine pare să ţină de faptul că pentru a domina, fenomenul de masculinizare trebuie să fie „puternic", dat fiind heterozigoţia masculilor (XY) în cazul vertebratelor cercetate, heterozigoţie care, prin prezenţa gonozomului X, ar orienta pasiv dezvoltarea în sens feminin. Ipoteza este probată de faptul că la păsări, unde heterozigoţia este femelă (ZW), fenomenele se petrec invers, adică factorii de feminizare sînt mai puternici şi de aceea domină tendinţa masculinizantă genetică, indusă prin gonozomul Z.

Faptul că heterogameţia unuia dintre sexe (la mamifere masculul, iar la păsări, femela) aduce genetic elemente informatorii ce favorizează unul dintre sexe ne face să presupunem că schema hermafrodită din fazele iniţiale de dezvoltare a oricărui organism gonochoric are rezonanţe masculine sau feminine, după cum masculul sau femela reprezintă sexul homogametic.

Realizarea diferenţierii sexului heterogametic necesită, în consecinţă, existenţa unor factori sexualizanţi gonadici dominanţi, capabili să se impună factorilor pasivi de dezvoltare homogametică. Aşa se explică de ce în condiţii de anorhidie la om, organismul — deşi nu se diferenţiază sexual — se apropie

ca aspect mai mult de fenotipul sexual femel, fără însă a se confunda cu el.

În cazul omului, al mamiferelor și al altor vertebrate, fenomenele patologice sau experimentale care reușesc să modifice schema de dezvoltare unisexuală constituie factori violenți, străini de organism. Numai în aceste condiții, anormale, stabilitatea sistemului de diferențiere sexuală se dovedește precară. În condiții normale, sistemul este stabil (Ponse, 1949).

Există totuși specii și chiar rase de animale la care sistemul de diferențiere sexuală prezintă o labilitate mai mult sau mai puțin accentuată față de condiții de mediu foarte ușor modificate și, desigur, asimilate de specie. Exemplele sînt numeroase. Astfel, crepidula (moluscă gasteropodă) trăiește în grămezi pe cochiliile goale ale altor moluște marine. Indivizii mici și tineri care se găsesc la vîrful grămezii sînt masculi, cei mari și vîrstnici de la baza acesteia sînt femeli, iar indivizii din partea mijlocie a grămezii sînt hermafroditi. Dacă un mascul este izolat de grup, el devine femelă. În caz că masculii sînt puși în contact direct cu femele, ei rămîn indefinit masculi. Dacă se îngrămădesc mai mulți masculi unii peste alții, cei de la bază se transformă în femele.

La anelidul *Ophyotrocha puerilis*, individul tînăr este mascul; el devine femelă cînd atinge 15—20 de segmente. Dacă masculul este împiedicat să aibă mai mult de 15 segmente, animalul rămîne indefinit mascul.

La steaua-de-mare *(Asterina giboza)* indivizii sînt în general hermafroditi. În anumite localități se găsesc însă și indivizi gonochorici, exclusiv femele sau exclusiv masculi.

La *Bonnellia viridis* dimorfismul sexual este extrem de accentuat; femela măsoară 20—30 cm și este liberă, în timp ce masculul, lung de numai 1—2 mm, trăiește parazit în trompa femelei. Ambii provin din larve perfect asemănătoare care, după o evoluție identică, se diferențiază sexual în funcție de mediul în care se dezvoltă. Larvele care duc o viață liberă devin femele, iar cele ce se fixează pe trompa femelei devin masculi.

În toate aceste cazuri determinismul sexual este dobîndit în timpul fecundației, dar constituția genetică ce apare ulterior

nu are decît o acţiune slabă şi labilă asupra diferenţierii sexuale. Ea poate fi tulburată de nenumăraţi factori externi.

Dacă în cazurile citate, cu sisteme de diferenţiere stabile sau labile, se poate urmări o filiaţie între sexul genetic şi realizarea diferenţierii sexuale prin prelucrarea informaţiei cromozomiale în diferite dispozitive (gonade) şi prin diferite mecanisme (hormoni), în alte cazuri sistemul apare cu totul altfel alcătuit. De pildă, la insecte castrarea nu a dat rezultate similare cu cele constatate la vertebrate. Mai mult, chiar dacă insectelor castrate li s-au grefat gonade heterosexuale (larve de drosofilă), ele au continuat să dezvolte caracterele diferenţiale ale sexului genetic. Faptul că prin castrare nu se produc modificări ale sexualizării ar tinde să demonstreze că, în aceste cazuri, gonadele, deşi există, nu au rol activ în procesul de diferenţiere sexuală. Cum însă la insecte, dimorfismul există, şi uneori chiar foarte pronunţat, este de presupus că sexul genetic îşi exercită acţiunea direct asupra fiecărui caracter sexual şi că fiecare celulă sexual diferenţiată datorează această diferenţiere constituţiei cromozomiale a nucleului său. Dar chiar la acest model de sexualizare, întîlnit la insecte, realizatorii informaţiei cromozomiale par să sugereze o intervenţie hormonală. Mecanismul de acţiune al hormonilor ar fi însă mult mai limitat, la nivel de celulă sau de ţesut, în sensul unei topocrinii. La albinele din genul *Andrena*, parazitate de *Xenos*, sau la insectele din genul *Thelia*, parazitate de unele himenoptere, numai părţile parazitate ale organismului mascul sau femel tind să capete un aspect intersexuat.

Indiferent de mecanismul de realizare a diferenţierii sexuale, rolul factorului genetic este determinant. Deşi sexul se stabileşte în momentul fecundaţiei, el se creează pe baza unor elemente preexistente în gameţii care participă la acest act (progamic) şi se realizează în condiţiile de mediu asimilate de specie (epigamic).

BIBLIOGRAFIE

Brosseau, G. E. J., „Genetics", 45, 1960, 527.
Burns, R. K., „Survey Biol. Prog." 1949, 1, 233.
Idem, *The urogenital system*, în *Analysis of Development*. Villier,

Weiss and Hamburger. Eds. Philadelphia; W. B. Saunders Company, 1955.
Dantcharkoff, V., „Bull. Biol. France et Belgique", 70, 1936, 241.
Fung, S. T., J. W. Gowen, „Rec. Genet. Soc. Am.", 29, 1960, 70.
Humphrey, R. R., „Biological Symposia", 9, 1942, 81.
Jost, A., *La fonction du testicule foetal*, în *La fonction endocrine du testicule*, Masson et Co., Paris, 1957.
Idem, *Embryonic sexual differentition*, în *Hermaphroditism Genital Anomalies, and Related Endocrine Disorders*, H. W. Jones and W. W. Scott, Eds. Baltimore: The Williams and Wilkins Co., 1958.
Krivshenko, J., „Genetics", 44, 1959, 1027.
Lillie, F. R., „J. Exper. Zool.", 23, 1917, 371.
Maicanescu, M., V. Săhleanu, B. Ionescu, *Probleme ,de sexologie masculină*, Editura Medicală, București, 1958.
Makino, S., *Chromosome Numbers in Animale*, -2nd ed. Ames: Iowa State College Press., 1951.
Pipkin, S. B., „Univ. Texas Bubl.", 1959, 5914, 69.
Ponse, K., *La différencition du sex et l'Intersexualité chez les Vertébrés*, F. Rouge, Lausanne, 1949.
Stern, C., E. Hadorn, „Am Naturalist", 72, 1938, 42.
Tjio, J. H., A. Levan, „Heredites", 42, 1956, 1—6.
White, M. J. D., *Les chromosomes*, în *Monographies Dunod*, Paris, 1964.
William, C., Ph. D. Young, *Sex and internal secretions*, Eds. Williams and Wilkins Co. Baltimore, 1961.
Witschi, E., *Sex deviations and parabiosis*, In Sex and Internel Secretions. E. Allen, Ed., Ch. 5, Baltimore; The Williams and Wilkins Co. Baltimore, 1932.
Wolff, E. F., *Les changements de sexe*, Gallimard, 1964.

Scanned with OKEN Scanner

12

Citogenetica

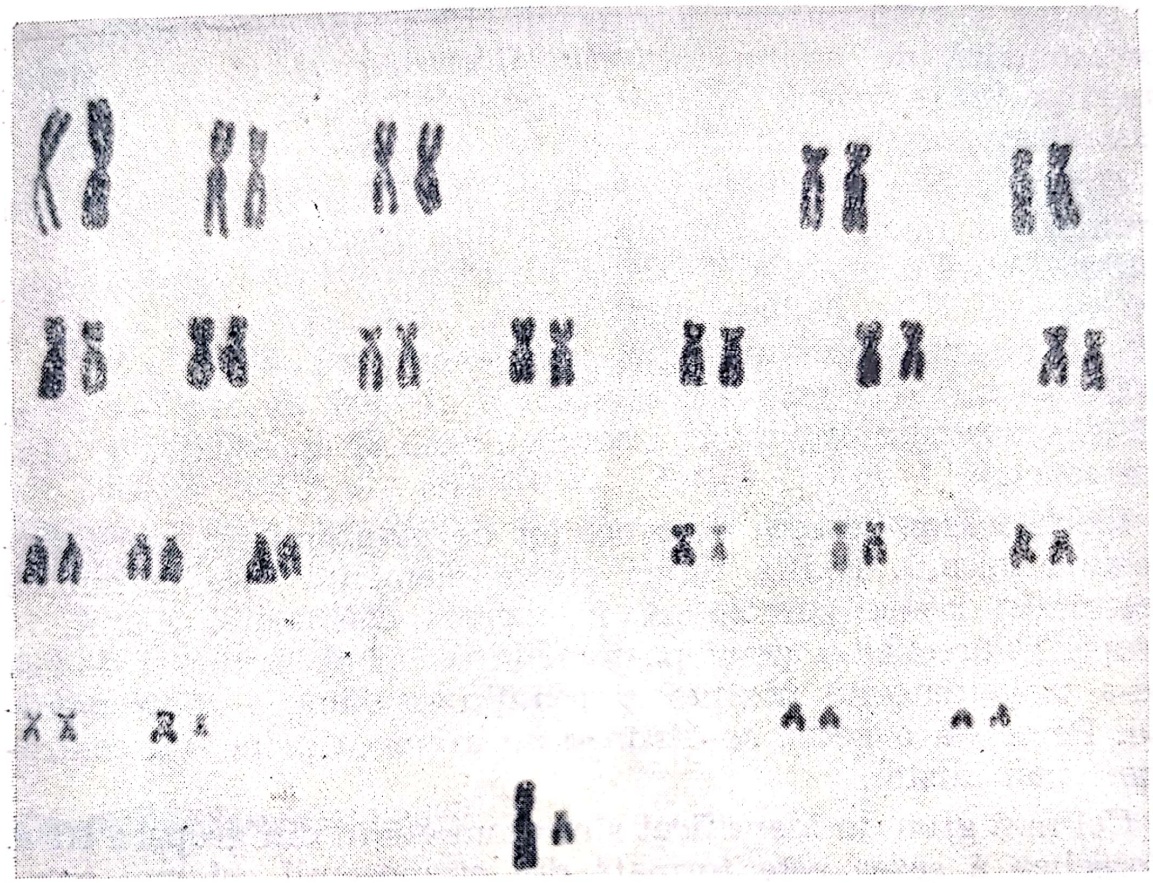
Primele cercetări asupra nucleului și a cromozomilor au început în a doua jumătate a secolului trecut. În 1 66, Haeckel intuiește importanța pe care o are nucleul în transmiterea caracterelor ereditare. El credea că citoplasma are doar rolul de a asigura adaptarea la condițiile de mediu.

Ideea că cromozomii sînt suportul material al eredității a fost sugerată de cercetările lui Fleming și ale lui Strasburger asupra diviziunii celulare. În 1884, Rabl arată pentru prima oară că fiecare specie are un număr fix de cromozomi. În același an, Hertwig afirmă că cromozomii sînt purtătorii eredității.

Primele studii asupra cariotipului uman sînt inițiate la începutul secolului al XX-lea. În 1912, studiind spermatogoniile, Winiwarter afirmă că bărbatul are 47 de cromozomi, 46 autozomi + X. Femeia se deosebește de bărbat prin prezența unui cromozom X suplimentar. Ea ar avea 46 de autozomi + XX. Ceva mai tîrziu, în 1921, Painter descoperă încă un mic acrocentric în spermatocitele primare și susține că și bărbatul are 48 de cromozomi, cei doi gonozomi fiind XY. Ipoteza este aproape unanim admisă pînă în 1956, cînd Tjio și Levan demonstrează cu ajutorul culturilor de celule că omul are numai 46 de cromozomi — 44 de autozomi și doi cromozomi de sex. După o scurtă perioadă de nesiguranță, generată de afirmația lui Kodani că japonezii ar avea și 46 și 48 de cromozomi, afirmație curînd infirmată, a devenit evident că toți oamenii contemporani, indiferent de răspîndirea lor geografică, au 46 de cromozomi.

După descoperirea cariotipului uman s-au propus mai multe sisteme de clasificare a cromozomilor. Pentru a se stabili un sistem unic, în 1959 se organizează la Denver (California) o conferință de citogenetică, în cadrul căreia se adoptă sistemul care poartă numele localității californiene.

Scanned with OKEN Scanner



58. Cariotip uman normal

În conformitate cu acest sistem, cei 46 de cromozomi sînt împărţiţi în şapte grupe, fiecare dintre ele cuprinzînd un număr variabil de cromozomi, dar care se aseamănă prin lungimea braţelor, prin poziţia centromerului şi a raportului dintre braţe:

Grupa I cuprinde primele trei perechi de cromozomi. Aceştia sînt mari, cu centromer metacentric. Primele două perechi de cromozomi par ceva mai mari decît ultima.

Grupa a II-a include perechile patru şi cinci. Sînt cromozomi mari, cu centromer submedian.

Grupa a III-a este cea mai numeroasă. Ea cuprinde 14 cromozomi de volum mijlociu, cu centromer submetacentric, de volum inegal. Perechea a şasea este cea mai mare, iar perechea a douăsprezecea cea mai mică.

Scanned with OKEN Scanner

Grupa a IV-a cuprinde perechile 13 și 15. Cromozomii sînt acrocentrici, de volum mijlociu. Cromozomul 13 are sateliți mari pe brațe scurte, în timp ce perechile 14 și 15 au, pe aceleași brațe, sateliți mici.

Grupa a V-a cuprinde perechile 16—17 și 18, alcătuite din cromozomi mici, cu centromer median (perechea a 16-a) sau submedian. Perechea a 17-a are uneori sateliți pe brațele scurte.

Grupa a VI-a include două perechi de cromozomi — 19 și 20. Sînt cromozomi mici, cu centromer median.

Grupa a VII-a este formată tot din două perechi — 21 și 22. Cromozomii sînt mici și acrocentrici. Ei au sateliți pe brațul scurt.

Identificarea corectă a perechilor de autozomi nu este întotdeauna ușoară. Există totuși cîteva elemente care permit ca cel puțin unele perechi să fie corect clasificate. Astfel, în grupa I perechea a doua poate fi separată de prima și de cea de-a treia datorită poziției mai puțin mediane a centromerului. Perechea a patra se distinge de a cincea printr-un centromer mai distal.

Cel mai greu de identificat sînt cromozomii din grupa a III-a. Perechea a șasea este formată din cromozomii cei mai mari. Următorii cromozomi se clasifică în funcție de poziția centromerului: 6—7—8 și 11 sînt metacentrici, iar 9—10 și 12, submetacentrici.

Pentru clasificarea corectă a cromozomilor se ține seama și de prezența constricțiilor. Cromozomii din perechea a șasea au constricții pe brațul scurt, cei din perechea 9 și 11 au constricții paracentrice, iar cromozomii din perechea a 17-a au constricții pe brațele lungi.

Conform cercetărilor citogenetice, cromozomii de sex sînt situați în grupe diferite. Gonozomul X aparține grupei a III-a (6—12) și este asemănător cromozomilor din perechea a șasea sau a șaptea, de care este greu de distins. Cercetări cu timidină marcată au arătat însă că gonozomul X ar fi unul dintre cei mai mici cromozomi din grupa a III-a. Indiferent de poziția pe care o ocupă în această grupă, la femei se vor găsi 16 cromozomi, iar la bărbat numai 15.

Individualizarea gonozomului Y nu poate fi făcută decît pe

imagini foarte bune. Se admite în general că el este cel mai mare dintre micii acrocentrici. El are brațele mici mai scurte decît ceilalți cromozomi din grupa a VII-a și nu prezintă niciodată constricții secundare sau sateliți. Brațele lungi tind să fie mai apropiate decît brațele lungi ale celorlalți mici acrocentrici. În sfîrșit, identificarea cromozomului Y se bazează și pe faptul că el se replică mai tîrziu decît ceilalți cromozomi mici din ultima grupă.

Ținînd seama de dificultățile pe care le ridică identificarea tuturor perechilor de cromozomi, Patau renunță la numerotarea cromozomilor și înseamnă cele șapte grupe de cromozomi cu primele litere ale alfabetului. Astfel, grupa I din sistemul Denver corespunde grupei A din sistemul Patau, grupa a II-a corespunde grupei B, și așa mai departe.

În spiritul acestei clasificări, sindromul Down se va numi sindromul de trizomie G sau G_1, deoarece a fost primul sindrom de trizomie descris în acest grup.

Anomaliile cromozomiale

Cercetările experimentale efectuate pe drosofilă în primele decenii ale secolului nostru au dus la concluzia că multe malformații somatice sau ale organelor genitale se datoresc modificărilor de număr sau structură ale cromozomilor. Această ipoteză formulată de Bridge a fost admisă apoi și ca explicație pentru intersexualitățile umane.

Mai tîrziu, în 1932, Waardenburg presupune că sindromul Down ar putea fi o consecință a unei anomalii cromozomiale — deficiențe sau exces de cromozomi.

Prima confirmare a existenței anomaliilor cromozomiale a adus-o descoperirea și apoi studierea cromatinei sexuale.

În 1949, Barr și Bertram au remarcat prezența în celulele nucleului hipoglos de pisică a unui mic corpuscul intens colorabil. S-a demonstrat apoi că la multe specii, inclusiv la om, un număr variabil de celule includ acest corpuscul, numit ulterior corpusculul cromatinian de sex sau corpusculul Barr. Ca regulă generală, numărul acestor corpusculi este egal cu

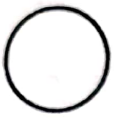
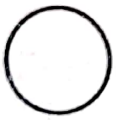
Scanned with OKEN Scanner

59. Nuclei cu cromatină sexuală

numărul cromozomilor X—1. De aceea, ei se vor întîlni întotdeauna la femei și niciodată la bărbați, dacă nu există anomalii cromozomiale. În mod obișnuit, la femeile normale frecvența acestor corpusculi este de cel puțin 4—5%. La bărbați lipsesc de obicei și numai rareori se găsesc în proporție de 1—2%.

Dimorfismul sexual este evident chiar și la nivelul globulelor albe din sîngele periferic. Într-un număr relativ redus de polinucleare se întîlnesc mici noduli, legați de nucleu printr-un filament subțire. Acești noduli, denumiți *drumstik*, au fost descriși de Davidson și sînt caracteristici femeilor. La bărbații normali lipsesc. Ca atare, orice abatere de la această regulă constituie expresia unei anomalii a cromozomilor de sex.

Anomaliile numerice pot interesa toată garnitura cromozomială sau numai o singură pereche cromozomială. În prima

SEXUL NUCLEAR	SEXUL CROMOZOMIAL	ASPECTUL CLINIC
 negativ	xy	Normal masculin
pozitiv	xx	Normal feminin
 negativ	xo	Sindrom Turner
pozitiv	xxy	Sindrom Klinefelter
pozitiv	xxx	Superfemele

60. Relația dintre cromatina sexuală și cromozomii de sex

ipoteză, numărul diploid caracteristic poate fi redus la jumătate, fiind prezent doar cîte un cromozom din fiecare pereche (haploid). La om, structura haploidă este caracteristică celulelor germinale, dar nu se întîlnește niciodată în celulele somatice.

Este posibil și fenomenul invers: într-o celulă numărul haploid este multiplicat de mai multe ori, ajungîndu-se la poliploidie. După numărul seturilor haploide, celulele pot fi:

triploide = 3n, la om 69 de cromozomi;
tetraploide = 4n, la om 92 de cromozomi;
pentaploide = 5n, la om 115 cromozomi.

Poliploidia poate apărea pe două căi: prin multiplicarea cromozomilor celulelor diploide, sau prin hibridarea între două

Scanned with OKEN Scanner

organisme diploide (eventual fecundarea unui gamet diploid de către un gamet haploid). Evident, la om nu există poliploidii decît în cazuri excepționale. Ele apar de obicei prin fecundarea unui gamet diploid de către un gamet normal. Rezultă un zigot triploid.

Alte anomalii cromozomiale privesc numărul de cromozomi dintr-un set (heteroploidie). În unele cazuri poate lipsi un singur cromozom (monozomie), în altele poate fi în plus un cromozom (trizomie). Aceste aberații se referă deci la o anumită pereche autozomală sau gonozomială. Polizomia indică prezența mai multor cromozomi, în timp ce nulizomia desemnează absența unei perechi cromozomiale.

Anomaliile cromozomiale de formă. Alături de aberațiile numerice ale cromozomilor se cunosc și numeroase anomalii de formă. Aceste anomalii presupun, ca o condiție preliminară și necesară, existența cel puțin a unei singure rupturi cromozomiale. Rupturile apar uneori în cadrul diviziunilor celulare normale, însă cel mai adesea ele sînt provocate de diferiți factori mutageni.

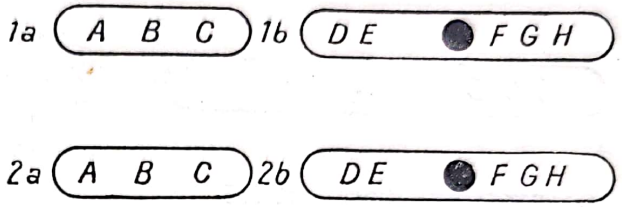
În urma unei rupturi între C și D se formează un fragment acentric A B C, care are de obicei tendința de a se uni cu capătul liber al cromozomului în care s-a produs ruptura (fig. 61). Unirea nu se face cu capetele cromozomilor întregi, deoarece aceștia au gene terminale care împiedică sudura. Dacă unirea se face în aceeași ordine (restituție), cromozomul va fi normal și structural, și funcțional. Se poate întîmpla însă ca înainte de a se produce sudura, atît cromozomul incomplet, cît și fragmentul să se duplice (fig. 62).

În acest caz există mai multe posibilități. În unele împrejurări, din unirea celor două fragmente va rezulta un cromozom acentric, care va fi eliminat, deoarece nu poate participa la procesul de diviziune. Alteori, prin unirea celorlalte două segmente se va forma un cromozom dicentric. Dacă fragmentele duplicate se vor reuni cu segmente cromozomiale care au centromer, ordinea genică va fi restabilită, indiferent dacă va fi 1 a cu 2 b sau 2 a cu 1 b. În ipoteza că reunirea nu se face, viitorul cromozom va avea un segment lipsă (deleție termi-

Scanned with OKEN Scanner

nală), cu consecințe care depind de volumul pierderii. Inversiunea terminală apare în cazul în care fragmentul rupt se resudează în ordinea inversă ordinii inițiale (fig. 63).

61. Fragment acentric ABC, apărut în urma rupturii între C și D

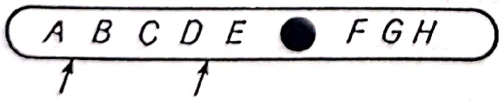


62. Cromozomi rupți duplicați

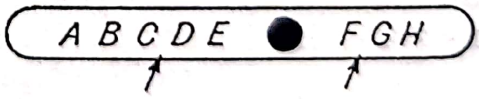
Rupturile duble pot avea loc într-un singur cromozom sau în doi cromozomi neomologi. Atunci cînd este afectat un singur cromozom, ambele rupturi pot fi de o singură parte a centromerului (paracentrice) sau de o parte și de alta a centromerului (pericentrice) (fig. 64, 65).

63. Inversiune terminală

Consecințele acestor tipuri de rupturi sînt variate. În cazul inversiunii paracentrice sau pericentrice, fragmentul mijlociu se reunește cu cele două capete ale cromozomului în ordine inversă (fig. 66, 67).



64. Ruptură paracentrică



65. Ruptură pericentrică

În procesul de deleție, unul dintre fragmentele cromozomiale rupt nu se mai reunește și viitorul cromozom va prezenta astfel pierderi de material. Fragmentul acesta se poate uni cu propriul lui capăt și formează un cromozom în formă de inel

(Ring—Chromozom), care — neavînd centromer — se va pierde în viitoarea diviziune celulară (fig. 68).

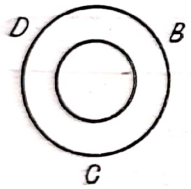
Dacă reunirea nu s-a făcut și fragmentele s-au replicat, sudarea este posibilă în viitor, dar numărul erorilor crește. Sudura

66. Inversiune paracentrică

67. Inversiune pericentrică

se poate face, de pildă, înglobînd același fragment de două ori, ca în cazul duplicației (fig. 69).

Consecințele rupturilor în doi cromozomi diferiți sînt particulare. Astfel, prin reunirea a două fragmente centrice se va forma un cromozom dicentric. Unirea fragmentelor fără centromer nu va fi însă viabilă.



68. Cromozom în formă de inel

69. Cromozom duplicat

De asemenea, este posibil ca fragmentele rupte să nu se mai unească cu cromozomul din care s-au desprins, ci cu un cromozom diferit. Dacă schimbul de fragmente este reciproc, se va realiza o translocație reciprocă.

Frecvența anomaliilor cromozomiale. Apariția anomaliilor cromozomiale este un fenomen obișnuit la toate speciile. S-a stabilit că la drosofilă, de pildă, se întîlnesc șase-șapte aberații cromozomiale la 10 000 de meioze. La șoareci, incidența embrionilor triploizi rezultați din încrucișarea „Silver" și „Non Silver" variază între 2,5 și 57‰.

Serro a încercat să calculeze incidența gameților neechilibrați cromozomial la om pornind de la presupunerea că toți indivizii haplo X sînt cromatino-negativi, că eroarea apare în gametogeneză și că aberațiile cromozomiale sînt distribuite la întîmplare în populație. Ținînd seama de incidența numărului de indivizi cu anomalii gonozomiale, se admite că 1/1 200 de gameți poartă o anomalie a cromozomilor de sex. Dacă se adaugă și sindromul Down, atunci 1/600 din gameți sînt anormali. Valorile sînt aproximative, deoarece s-a calculat numai o parte din aberațiile cromozomiale compatibile cu viața. După toate probabilitățile, din 300—400 de gameți, unul poartă o anomalie cromozomială.

Singurele date reale pe care le avem asupra frecvenței anomaliilor cromozomiale au fost obținute cu ajutorul cromatinei sexuale. Ca atare, ele se referă numai la incidența anomaliilor gonozomiale. Cu ajutorul acestei metode s-a arătat că 0,03% dintre nou-născuții fete au un gonozom X absent și că 0,08% au doi corpusculi cromatinieni, deci 3 cromozomi X (superfemele).

Printre nou-născuții băieți, 0,30% au cromatina sexuală pozitivă. Se observă deci că incidența anomaliilor gonozomiale este mult mai mare la băieți.

În serii selecționate, incidența anomaliilor cromozomiale este considerabil mai mare. Astfel, printre femeile cu amenoree primară, 28% au diverse tipuri de aberații gonozomiale. Dacă se exclud amenoreele de cauze cunoscute, atunci proporția crește la 43% (Iacobs, 1961). Totuși, aceste valori reflectă numai parțial frecvența zigoților XO. S-a calculat, pe baze teoretice, că numai un sfert din totalul zigoților XO trăiesc. Ipoteza pare să fie susținută de cercetările efectuate asupra embrionilor avortați. La doi din 41 de embrioni avortați, Carr a găsit un cariotip XO. Așadar, se pare că un asemenea cariotip poate fi uneori letal. Aceasta ar fi una dintre explicațiile frecvenței mai reduse a formelor XO față de XXY.

Dintre bărbații subfertili, 3% au cromatina sexuală pozitivă. Din totalul de bărbați sterili, 10% își datoresc tulburările prezenței unui cromozom X suplimentar (Nowakowski, 1961). Incidența indivizilor cu cromatina pozitivă este, de asemenea,

Scanned with OKEN Scanner

extrem de mare (1/50) printre delincvenții cu deficit psihic. Frecvența anomaliilor autozomale nu este cunoscută prea bine. Se știe doar incidența copiilor cu trizomie 21.

Deși excepțional de rare, se cunosc totuși și cazuri de duble anomalii cromozomiale. Teoretic, posibilitatea unei duble nondisjuncții apare o dată la 560 000 de gameți. În literatura genetică s-au descris următoarele asociații: XXY + trizomie 21, trizomie 21 + trizomie 18 și XXX + trizomie 18. Se pare că cele mai multe duble trizomii sînt letale.

Din datele culese pînă în prezent, se poate presupune că nu există deosebiri în distribuția geografică a anomaliilor cromozomiale. Astfel, frecvențele cele mai mari și cele mai mici cunoscute pînă acum în Europa se întîlnesc în Elveția. În general însă, statisticile făcute în Europa și în America sînt asemănătoare. Deși în celelalte regiuni ale globului incidența anomaliilor cromozomiale a fost numai rareori cercetată, se poate admite, fără a greși, că nu există diferențe semnificative față de Europa sau America. Este cert că malformațiile somatice sau cele ale tractului genital și ale gonadelor se întîlnesc la toate rasele omenești. De pildă, copii cu trizomie 21 au fost citați în toate continentele.

Așa cum am arătat mai înainte, anomaliile cromozomiale au fost descrise la drosofilă, șoareci și pisici. Dintre acestea, cele mai interesante sînt cele descoperite la șoareci și pisici. Astfel, s-au găsit femele de șoareci cu cariotip XO, dar fertile și masculi cu azoospermie și XXY (Klinefelter). La pisică au fost citați indivizi cu tulburări gonadale și cariotip asemănător sindromului Klinefelter uman.

Mecanismul formării anomaliilor cromozomiale. Cele mai frecvente anomalii cromozomiale sînt aneuploidiile. Apariția lor este foarte ușor de explicat. În timpul gametogenezei, separarea cromozomilor nu se face riguros exact și de aceea stocul cromozomial al celulelor-fiice va fi inegal. Dacă ambii cromozomi au trecut într-o singură celulă, atunci cealaltă celulă-fiică va avea un cromozom mai puțin. Dacă un cromozom a rămas pe fus și s-a pierdut, va rezulta o celulă normală și una

cu un cromozom mai puțin. Tipul de anomalii este condiționat și de timpul cînd s-a produs nondisjuncția, în prima sau a doua diviziune celulară.

MODUL DE FORMARE A ANOMALIILOR CROMOZOMIALE

			Spermatozoid					
			normal		nondisjuncție la prima diviziune		nondisjuncție la a doua diviziune	
			x	y	xy	o	xx	yy
Ovul	Normal	x	xx	xy	xxy	xo	xxx	xyy
	nondisjuncție	xx	xxx	xxy	xxxy	xx	xxxx	xxyy
		o	xo	yo	xy	oo	xx	yy

Dintre aceste posibilități, YO, YY și OO n-au fost întîlnite niciodată, deoarece dezvoltarea zigotului impune cu necesitate prezența a cel puțin unui singur cromozom X.

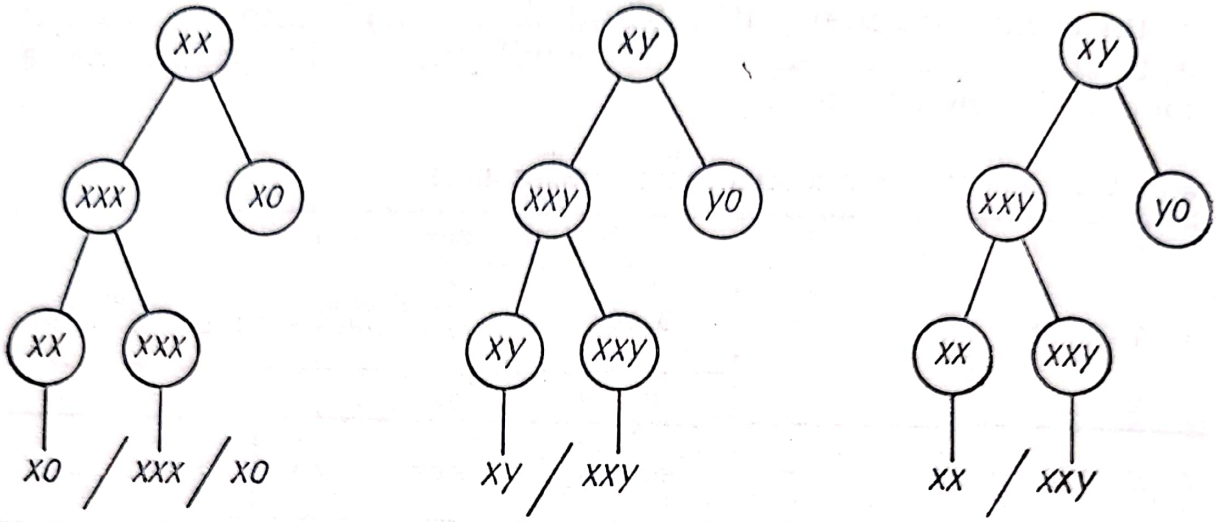
Mozaicurile, celule cu structură cromozomială diferită, se formează întotdeauna în cursul primei sau al primelor diviziuni ale oului. Răspîndirea și importanța mozaicurilor depind de momentul diviziunii în care s-a produs accidentul și ca atare de organele care se vor dezvolta din celulele anormale. Mozaicurile pot îmbrăca numeroase aspecte (fig. 70—73).

Conceptul de mozaicism are însă limite mult mai largi. Prin mozaicuri nu se înțeleg numai liniile celulare diferite cromozomial, ci și liniile celulare diferite prin structura genică.

Mozaicurile sînt larg răspîndite în natură. Se întîlnesc, de pildă, la lepidopterele ginandromorfe, care au o jumătate a corpului masculină și o jumătate feminină. De asemenea, au fost descrise mozaicuri și la vertebrate.

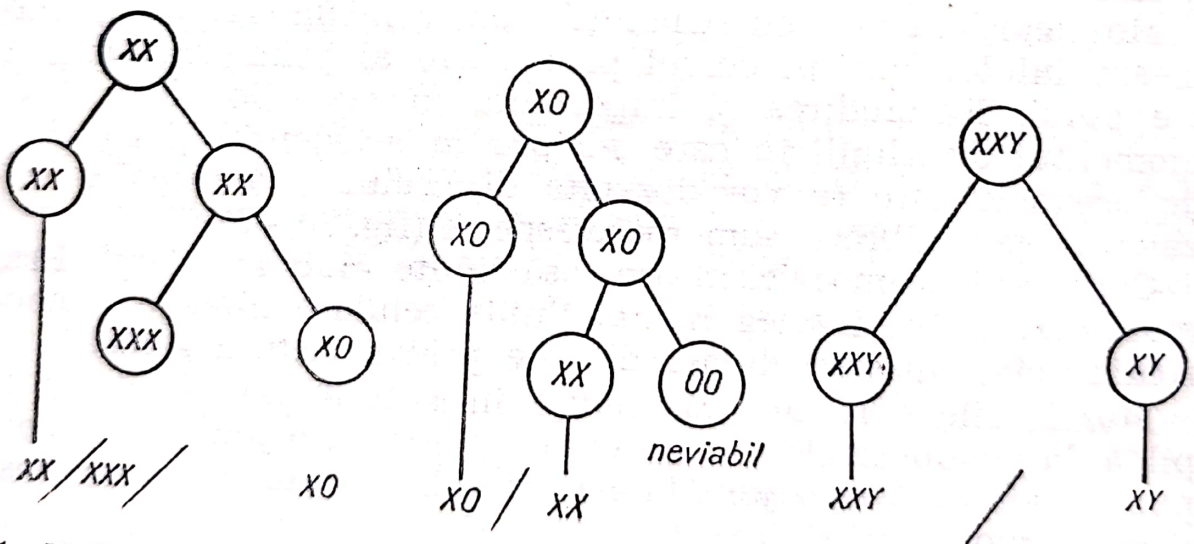
La om, cu excepția mozaicurilor cromozomiale, s-au citat numeroase mozaicuri pigmentare (Lentigos,), nevi răspîndiți doar pe o jumătate a corpului, cît și cazuri de heterocromie a irisului. Se pare că aceste forme sînt determinate de mozaicuri genice. Nu există însă nici o dovadă directă în sprijinul acestei ipoteze. Ea poate fi susținută doar indirect de faptul că nu

Scanned with OKEN Scanner



70. Nondisjuncţia unui cromozom X într-un zigot normal, urmată de pierderea unui cromozon X sau Y

avem altă explicaţie, şi că aceste anomalii limitate sînt ereditare. Mai există şi alte explicaţii plauzibile, cum ar fi mutaţiile în celulele somatice sau blocarea inegală a genelor anormale în anumite regiuni de către sistemele de control.



71. Model de realizare a unui mozaic XO/XX/XXX

72. Model de formare a mozaicului XO/XX

73. Mozaic XY/XXY format prin pierderea unui cromozom X într-un zigot anormal

Cauzele anomaliilor cromozomiale. Cauzele aberaţiilor cromozomiale umane sînt insuficient cunoscute. Se pare însă că numărul lor este extrem de mare, deoarece în condiţii experi-

mentale anomaliile cromozomiale se obțin foarte ușor. Se poate presupune că cel mai important factor mutagen îl reprezintă tulburările metabolismului celular.

Navașin a remarcat că incidența nondisjuncțiilor este semnificativ mai mare la semințele bătrîne decît la cele tinere. Observația lui a fost confirmată și la om de datele clinice și de cercetările de citogenetică. Astfel, s-a arătat că frecvența nondisjuncțiilor crește o dată cu vîrsta. La indivizii bătrîni, numărul de celule aneuploide este semnificativ mai mare decît la indivizii tineri. Limita între cele două grupe de vîrstă este greu de stabilit. Se pare — sub raport citogenetic — că procesul de îmbătrînire începe după 35 de ani. După această vîrstă, riscul de a avea copii purtători de anomalii cromozomiale crește evident. Cel mai cunoscut exemplu este sindromul Down.

Cercetarea unor mari serii de părinți care au copii afectați a scos în evidență faptul că vîrsta medie a mamelor acestora este semnificativ mai mare decît a mamelor care nasc copii normali. S-a stabilit, de asemenea, că șansa de a naște un copil afectat este direct proporțională cu vîrsta mamei.

RELAȚIA DINTRE VÎRSTA MAMEI ȘI FRECVENȚA NAȘTERILOR CU SINDROM DOWN (DUPĂ EFROIMSON, 1963).

Vîrsta mamei în ani*	Frecvența bolii Down la nou-născuți (la %) după datele lui		Frecvența nașterii unor copii cu boală Down, după datele diferiților autori						
	Penrose (1954) Anglia	Beolchini (1959) Milano	B. L. Struțkowskaia (1931) Kiev)	Scheer (1927) Olanda	Benda (1946) S.U.A.	Scott (1961) Anglia	G. Lefèvre (1953) Franța de nord	Kalb (1957) München	Lenz (1959) Hamburg
15—19	0,03	0,04	3	1	4	9	1	—	6
20—24	0,04	0,02	19	18	26	71	7	24	24
25—29	0,04	0,08	20	37	29	112	18	23	36
30—34	0,11	0,13	19	35	48	153	13	39	35
35—39	0,33	0,42	25	83	84	223	23	69	54
40—44	1,24	1,2	15	106	56	171	32	40	63
45 și peste	3,12	—	—	35	8	—	3	5	7

* La unii autori grupele de vîrstă nu corespund cu un an față de cele indicate în această rubrică.

Scanned with OKEN Scanner

După datele culese de Efroimson, mai mult de 40% dintre copii cu sindrom Down se nasc din mame care au trecut de 40 de ani. Același fenomen a fost întîlnit și la mamele care au născut copii cu sindrom Klinefelter sau cu trizomie 18. După Nowakovski, vîrsta medie a mamelor cu copii cu sindrom Klinefelter este de 36 de ani, iar după Niermann și Schoeller, de 33,5 ani. Aceste medii sînt mai mari decît cele ale seriilor martor.

Se pare că și unele tulburări ale metabolismului, generate de carențe alimentare sau de tulburări endocrine, favorizează apariția nondisjuncțiilor cromozomiale. Klebanow a remarcat că femeile tinere internate în timpul războiului în lagăre de concentrare au născut într-o proporție mai mare decît cea așteptată copii cu sindrom Down. De asemenea, se pare că mamele cu hipertiroidism nasc uneori copii cu trizomie 21.

Un alt mare grup de agenți cauzali îl constituie radiațiile. Rolul lor mutagen este prezentat în capitolul de radiogenetică.

Rămîne incert rolul mutagen al infecțiilor. În condiții experimentale, infecția cu virusul herpetic produce, în culturile de celule de hamster, mutații cromozomiale (rupturi, translocații, cromozomi dicentrici) asemănătoare celor obținute prin iradieri sau prin substanțe alchilizante.

În afară de acești factori, care, fără îndoială, sînt cei mai importanți, s-a admis ipoteza că nondisjuncțiile ar putea fi favorizate și de o genă sau de un grup de gene particulare. Ipoteza este sprijinită de apariția familială a cazurilor de anomalii cromozomiale. Astfel, în 1962, Hauschka descrie o familie în care tatăl, cu cariotip XYY și fertil, fără nici o tulburare clinică evidentă, s-a căsătorit de două ori. Din prima căsătorie a avut o fată fără uter și fără ovare. Deși cariotipul acestei fete era normal, nu se poate exclude existența unui mozaic XO/XX. Al doilea copil, anormal, a murit de boala albastră curînd după naștere. Alți doi copii păreau normali. Din a doua căsătorie au rezultat un copil cu trizomia 21, un avort și un copil normal.

Transmisibilitatea anomaliilor cromozomiale. Cu foarte puține excepții, anomaliile cromozomiale nu sînt transmisibile, deoarece antrenează aproape întotdeauna disgenezii gonodale

și implicit sterilitate. Excepțiile cunoscute cuprind două mari grupe de anomalii: translocațiile și excesul de gonozomi.

Purtătorii de translocații au 45 de cromozomi, deoarece doi au fuzionat. Ca atare, stocul lor cromozomial este normal și nu prezintă nici un fel de tulburări clinice. Dacă însă în timpul diviziunii celulare acest cromozom va intra într-un gamet care va participa la fecundare, atunci zigotul va avea o trizomie. Așa se întîmplă în sindromul Down, unde mamele tinere sînt uneori purtătoarele unei translocații 13—15/21. Cîteodată, translocația poate fi urmărită mai multe generații la persoane aparent normale.

Anomaliile gonozomiale sînt mult mai rare. În 1961, Eva Bergemann a întîlnit o familie în care bunica și două fiice aveau un mozaic XXX/XXXX (a doua fiică avea și o linie normală XX). Prima dintre cele două fete a născut doi copii: o fată cu același mozaic, și o fată cu trizomie 21.

Consecințele anomaliilor cromozomiale. În general, aberațiile cromozomiale au urmări deosebit de grave. Manifestările anatomo-clinice sînt condiționate de volumul cromozomului lipsă sau supranumerar, cu alte cuvinte, de numărul genelor absente sau supranumerare și de rolul pe care acesta îl joacă în dezvoltarea organismului uman. Ca atare, cu cît cromozomul afectat este mai mare, cu atît tulburările clinice sînt mai importante.

Monozomiile sau trizomiile 1—12 nu sînt compatibile cu viața. Se pare că sînt incompatibile și cu dezvoltarea zigotului. S-au descris totuși numeroase cazuri de trizomii 13—15 și 16—18 la copii cu malformații grave. Cele mai numeroase sînt aberațiile gonozomului X. Anomaliile cromozomului Y sînt relativ rare și mai puțin importante.

Urmările anomaliilor cromozomiale sînt foarte variate și deseori greu de interpretat. O consecință comună aproape tuturor formelor de aberații autozomale și gonozomiale o constituie sterilitatea. Ea este rezultatul disgeneziei gonadale. Există doar cîteva excepții greu de explicat, cîteva femei fertile cu triplo X, excepțional de rare femei cu cariotip XO și cu sindrom Down.

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, sînt aproape constant întîlnite tulburări psihice. Intensitatea acestor tulburări este deosebit de mare în anomaliile autozomale. În aberațiile gonozomiale, ele sînt proporționale cu numărul cromozomilor X suplimentari. Astfel, la femeile cu XXX înapoierea mintală este mai severă decît la femeile haplo X, iar la bărbații cu XXX și XXXX fenomenele sînt mai marcate decît la bărbații cu XX. Evident, la bărbați există și un Y asociat.

Studiind 336 de băieți cu tulburări psihice reduse, Prader a găsit la 8 dintre ei cromatina sexuală pozitivă. Printre băieții cu tulburări mintale majore, frecvența cromatinei sexuale pozitive este mai mică: 10 dintre cei 1 252 de copii în seria lui Mosier (1960); 11 cu un corpuscul și doi cu doi corpusculi cromatinieni în seria de 1 506 de băieți a lui Barr (1960) și 23 cu un corpuscul, patru cu doi corpusculi și unul cu trei corpusculi cromatinieni în seria de 2 617 de băieți a lui Maclean (1962).

În encefalitele infecțioase, cariotipul este normal. Cu cîteva excepții, cariotipul este aparent normal și în schizofrenie.

Anomaliile somatice sînt o expresie obișnuită a aberațiilor cromozomiale, cu excepția aberațiilor gonozomului Y. Atunci cînd aceste anomalii sînt numeroase și grave, embrionul este avortat. Se pare că cel puțin 15% dintre avorturi se datoresc acestei cauze.

Prima etapă pe drumul cercetării efectelor anomaliilor cromozomiale s-a limitat la precizarea manifestărilor patologice decelabile fenotipic. Era însă evident că la baza acestor tulburări stau importante modificări biochimice, că paralel cu malformațiile somatice trebuie să existe și tulburări biochimice. Acest punct de vedere a fost într-adevăr confirmat.

În unele cazuri de disproteinemii s-a întîlnit un cromozom mai mare decît cromozomul din perechea 1. Originea acestei anomalii nu este cunoscută. Poate fi congenitală, dar mai probabil cîștigată. Se conturează astfel ideea că apariția tardivă a anomaliilor cromozomiale ar putea constitui cauza unora dintre nenumăratele tulburări a căror origine este încă necunoscută.

Alte cercetări au semnalat apariția tulburărilor tiroidiene la bolnavii cu anomalii cromozomiale. Cele mai importante sînt

Scanned with OKEN Scanner

însă modificările biochimice întîlnite la bolnavii cu trizomie 21. La acești bolnavi au loc importante modificări enzimatice.

Una dintre cele mai discutate probleme ale citogeneticii este relația dintre anomaliile cromozomiale și leucemie. Ideea că leucemia ar fi generată de o mutație cromozomială a fost demonstrată în 1961 de cercetările lui Hungerford și Nowell. Ei au găsit că într-o formă specială de leucemie cronică — leucemia mieloidă — apare un cromozom acrocentric anormal de mic. Acest cromozom Ph_1, denumit astfel după numele localității Philadelphia, este unul dintre cei patru acrocentrici finali care a pierdut aproximativ jumătate din brațele mici. Anomalia poate fi observată în special pe culturile de sînge periferic și este cu totul specifică acestui tip de leucemie. S-a mai semnalat un cromozom asemănător și în leucemia limfoidă cronică, dar existența lui este îndoielnică, deoarece în cercetările de control n-a mai fost observată.

Cromozomul Ph_1 întîlnit în majoritatea leucemiilor mieloide cronice pare să constituie o mutație somatică în celulele leucoblastice.

Descoperirea acestui cromozom nu a rezolvat însă problema. De pildă, nu se știe cînd apare mutația și prin ce mecanism pierderea de masă antrenează tulburarea leucopoezei.

Relația dintre anomaliile cromozomiale și leucemia acută este neclară. Uneori, în aceste tipuri de leucemie se întîlnesc anomalii cromozomiale nespecifice (Nicolau, 1965). Fiecare bolnav are un cariotip particular. De cele mai multe ori se observă aneuploidii (Ford, 1960 și Hungerford, 1962). Rolul acestor aberații este încă necunoscut. Nu se știe dacă sînt generatorul neoplaziei sau numai un epifenomen. Pare o simplă ipoteză că leucemia acută este rezultatul unei mutații în sistemul hematopoetic. Se formează astfel o linie celulară aneuploidă. În perioada de remisiune însă, această linie anormală dispare, pentru a reapărea în fiecare nou puseu. Fenomenul nu este obligatoriu. Se pare că leucemia apare uneori și la bolnavi cu anomalii ale gonozomilor. Cîteva observații sugerează că bolnavii cu sindrom Klinefelter fac relativ frecvent leucemie. Mecanismul tulburării leucopoezei rămîne și în acest caz necunoscut.

Scanned with OKEN Scanner

Anomaliile cromozomiale antrenează un tablou clinic mai mult sau mai puțin caracteristic. Diversitatea manifestărilor este relativ mare și uneori foarte greu de corelat cu anomalia cromozomială. Cu toate acestea, se pot izola un număr oarecare de sindroame, a căror origine cromozomială este certă.

XO. Prezența unui singur cromozom X este insuficientă pentru a asigura dezvoltarea și diferențierea sexuală și somatică normală a individului. Purtătorii acestui cariotip se vor orienta fenotipic în sens feminin, sexul neutru la om. Gonadele vor fi absente sau disgenetice. Frecvent se adaugă multiple malformații somatice: talie mică, gît palmat, anomalii cardiace, renale și scheletice. Această asociere de tulburări constituie sindromul Turner. În aproape 80% dintre cazurile de sindrom Turner cromatina sexuală este negativă și cariotipul este XO (Ford, 1959, Decourt, 1954).

XO/XX este cel mai răspîndit mozaic. Purtătorii acestei anomalii prezintă deseori, într-o formă atenuată, trăsăturile sindromului de disgenezie ovariană. Se pare că gravitatea fenomenelor clinice este legată de răspîndirea și de localizarea liniei XO. Cu cît răspîndirea acestei linii celulare este mai întinsă, cu atît sînt mai accentuate fenomenele clinice. Tot mozaicul explică și diversitatea malformațiilor întîlnite la femeile cu XO/XXX sau cu XO/XX/XXX. Teoretic, mozaicul XO/XX/XXX s-ar putea întîlni la femei cu tulburări clinice reduse și chiar fertile dacă linia XO nu este localizată în gonade.

XO/XY. Acest mozaic a fost descris într-un număr neobișnuit de variat de tulburări ale gonadelor și ale tractului genital, de la femei cu disgenezie ovariană, pînă la hermafroditi adevărați. În această serie intră indivizi cu fenotip feminin și fără urme de țesut testicular, indivizi cu pseudohermafroditism masculin și indivizi fenotipic masculini cu ginecomastie slabă, cu testicule hipotrofice și cu spermatogeneză deficitară.

O asemenea diversitate poate fi explicată doar prin momentul diferit, în raport cu perioada constituirii gonadelor și a tractului genital, cînd a apărut anomalia cromozomială. Structura unei gonade poate fi de ovar disgenetic sau de testicul disgenetic, în funcție de numărul de celule cu cariotip XO sau XY. Dacă frecvența celor două linii celulare este apropiată, gonada poate fi ovotestis.

Scanned with OKEN Scanner

XO/XYY a fost întîlnit rar la indivizi cu fenotip feminin și disgenezie ovariană. Nu se știe de ce în acest caz, în ciuda prezenței gonozomului Y, dezvoltarea se face în sens feminin.

XX este cariotipul normal al femeii. În prezența celor doi gonozomi X, diferențierea sexuală trebuie să apară evidentă și gonadele, împreună cu tractul genital, să fie normal dezvoltate. Într-adevăr, lucrurile se prezintă astfel în majoritatea cazurilor. Există totuși un număr relativ mic de excepții, și anume femei cu absența ovarelor și cu malformații de tract genital, dar cu cariotip aparent normal. Se cunosc și cîteva femei cu sindrom Turner și cariotip XX. Existența acestor excepții duce la presupunerea că disgenezia gonodală poate fi uneori determinată de factorii de mediu.

Numai cu totul excepțional cariotipul XX se întîlnește la indivizi cu fenotip masculin. Se cunoaște pînă acum un singur individ cu organe genitale ambigue și cu testicule. Nu este exclus însă ca acest caz să fie un mozaic XX/XXY, mozaic care ar putea explica tabloul clinic.

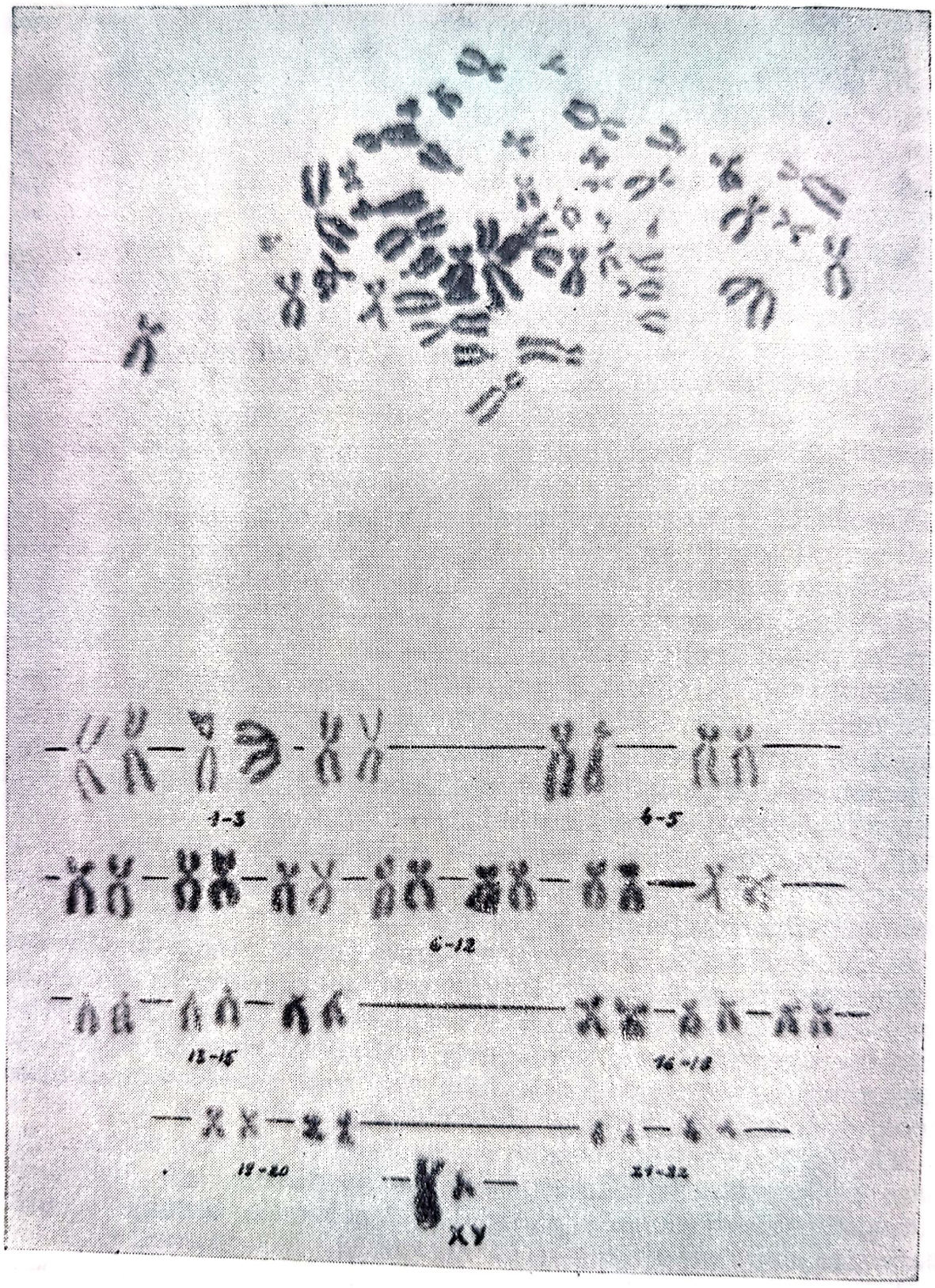
Cariotipul XX a fost descris în majoritatea cazurilor de hermafroditism adevărat (Hungerford, 1959). Prezența acestui cariotip, care, firește, nu poate explica apariția elementelor masculine, a dus la ipoteza că hermafroditismul adevărat ar putea fi determinat mai curînd de mutații genice decît de anomalii cromozomiale. Ipoteza este sprijinită de apariția cîtorva cazuri familiale. Același cariotip a fost întîlnit și în pseudohermafroditismul feminin (Milcu, 1965).

XXX și XXXX. Prezența suplimentară a unuia sau a doi cromozomi X antrenează tulburări mai puțin grave decît absența unui cromozom X. Clinic, sindromul triplo X (superfemelele) este eterogen. Cel mai constant simptom îl constituie înapoierea mintală. Alterarea gonadală este mai puțin importantă, deoarece s-au întîlnit femei cu XXX fertile.

XX/XXX este un mozaic cu consecințe clinice reduse. Se pare că purtătoarele acestui mozaic se disting prin proporții eunucoide și disgenezie gonadală. Caracterele sexuale secundare sînt slab dezvoltate.

XY este caracteristic bărbaților normali. A fost întîlnit însă și în numeroase cazuri de pseudohermafroditism masculin. Cariotipul XY a fost descris de Milcu, în 1964, la indivizi mascu-

Scanned with OKEN Scanner



74. Cariotip XY

Scanned with OKEN Scanner

lini fără testicule (anorhidie) și la mulți bărbați care prezentau tulburări ale dezvoltării glandelor sexuale.

În mod excepțional, a fost observat la femeile aparent normale, dar fără gonade (disgenezia gonadală pură).

XXY. Excesul de gonozomi X alături de unul sau doi cromozomi Y antrenează în mod deosebit leziuni degenerative ale gonadei masculine. Inconstant, indivizii cu acest cariotip mai prezintă talie înaltă, eunucoidism, ginecomastie și înapoiere mintală. Este interesant de remarcat că paralel cu creșterea numărului de cromozomi X—XXY, XXXY sau chiar XXXXY, tabloul clinic se modifică puțin. Se accentuează doar înapoierea mintală. Se pare, de asemenea, că XXXXY tinde să realizeze un sindrom aparte, caracterizat prin disgenezie gonodală marcată, hipoplazie importantă a organelor genitale externe, malformații osoase (sinostoză cubito-radială) și înapoiere mintală profundă (Fraccaro, 1960).

XXYY. Dublu masculii nu se deosebesc clinic de indivizii cu sindrom Klinefelter și cariotip XXY sau XXXY.

XY/XXY dă naștere sindromului Klinefelter. Ca în toate mozaicurile, intensitatea anomaliilor este condiționată de distribuția liniei anormale. Pentru a ilustra această afirmație, vom da un exemplu demonstrativ. Unui individ cu insuficiență gonodală i s-a făcut o biopsie a testicului și cu această ocazie s-a constatat că gonada este separată clar în două regiuni. Sub raport histologic, una avea aspect normal, cealaltă aspect disgenetic. Fiecare regiune prezenta un cariotip deosebit. Prima avea cariotip XY, ultima, cariotip XXY.

XO/XY/XYY a fost descris de foarte puține ori la indivizi cu pseudohermafroditism masculin (Milcu, 1963).

XYY. Se cunosc surprinzător de puține cazuri cu acest cariotip și de aceea efectele supradozajului de gene masculinizante sînt încă neclare. Cariotipul XYY a fost întîlnit la un individ normal și fertil, la un copil cu hipospadias (Milcu, 1963), la un intersexuat și la copii cu înapoiere mintală și testicule ectopice. Iată de ce sînt necesare noi cercetări pentru a preciza consecințele clinice ale acestui cariotip.

Sindroame autozomale. Sindromul de deleție a brațelor scurte ale cromozomului 5 se distinge printr-o asociere mai mult sau

Scanned with OKEN Scanner

mai puţin caracteristică de înapoiere mintală, microcefalie, distanţă mare între ochi (hipertelorism), malformaţii ale urechilor şi, în mod cu totul particular, printr-un ţipăt care reaminteşte miorlăitul pisicii. Amprentele palmare au un aspect particular.

În grupul C nu s-au descris, şi probabil nici nu se vor descrie, aberaţii majore — monozomii sau trizomii. S-au citat doar cîteva mozaicuri în care una din linii era trizomică. Tulburările clinice sînt importante: întîrziere mintală, malformaţii ale extremităţilor şi anomalii ale organelor genitale. Se citează şi cazul unei femei aparent normală, care a născut trei copii, dintre care doi cu malformaţii multiple. Deşi aparent normală, mama era purtătoarea unui mozaic în care una din linii era trizomică. Linia normală se întîlnea însă cel mai frecvent.

Sindromul de trizomie 13—15 a fost întîlnit întotdeauna la copii născuţi morţi sau la copii vii, dar cu malformaţii multiple şi grave, aproape întotdeauna letale în primele luni de viaţă. Malformaţiile descrise sînt extrem de variate: suturi craniene larg deschise, urechi jos implantate, nas larg şi trilobat, degetele mîinii flectate, polisindactilie, anomalii cardiace, renale şi genitale.

Sindromul de trizomie 18 este întîlnit în mod frecvent la fete. Se distinge prin numeroase malformaţii grave ale inimii şi rinichilor, prin hernii ombilicale, hipotonie şi prin prezenţa arcurilor la toate degetele. Copiii cu acest sondrom trăiesc în medie doar cîteva luni (Edwards, 1960).

Sindromul de trizomie 21 este cea mai frecventă anomalie autozomală umană. Purtătorii acestui sindrom se disting printr-un tablou clinic caracteristic, atît de caracteristic, încît toţi afectaţii din lume seamănă între ei. Pe primul plan al tulburărilor clinice stă înapoierea mintală (idioţia mongoloidă). Faţa prezintă trăsături cu totul aparte: ochi îndepărtaţi, epicantus, rădăcina nasului adîncă, limba scrotală, anomalii dentare. Gîtul este scurt. Se întîlnesc, de asemenea, numeroase malformaţii ale degetelor şi amprente palmare deosebite. Cu toate acestea, există o anumită variabilitate clinică, evidenţiată îndeosebi după descoperirea cariotipului. În familiile cu copii afectaţi se întîlnesc şi diferite tulburări care apar în sindromul de trizomie 21: limba scrotală, clinodactilie etc.

Scanned with OKEN Scanner

Citogenetic, sindromul Down se datorește trizomiei 21 (Lejeune, 1959). În cele mai multe cazuri se întîlnește un mic cromozom 21 suplimentar. La aproape 3% din cazuri se găsește o translocaţie 13—15/21. Purtătorii acestor translocații se nasc deseori din mame tinere, la rîndul lor purtătoare ale unei translocații asemănătoare, și manifestînd sau nu mici stigmate mongoloide. Spre deosebire de copiii afectați — care, aparent, au 46 de cromozomi —, dar în realitate 47, deoarece unul din cromozomi a rezultat din fuziunea a doi acrocentrici — mamele au numai 45 de cromozomi, în realitate 46 deoarece doi sînt uniți. S-au mai descris și alte translocații cu același rezultat, dar în toate cazurile este incriminat cromozomul 21.

La indivizii cu trizomie, fenomenele clinice sînt asemănătoare, indiferent dacă trizomia apare ca atare sau în cadrul unei translocații. S-au descris însă o serie de indivizi cu forme clinice mai ușoare, la care s-au găsit mozaicuri 46/47 — normal/trizomie 21. Datorită acestor cercetări s-a sugerat ideea existenței unei relații directe între frecvența celulelor anormale și intensitatea tulburărilor clinice. Înapoierea mintală și manifestările clinice grave ar apărea numai la indivizii la care mai mult de jumătate din celule sînt trizomice. Cu cît numărul celulelor normale este mai mare, cu atît tulburările clinice sînt mai ușoare. Totuși, datele nu sînt suficient de numeroase pentru a afirma că toate formele ușoare se datoresc exclusiv mozaicurilor.

Trizomia 22 este rar întîlnită. A fost descrisă pentru prima dată în 1961, de către Hayward, la un copil cu sindromul Sturge-Weber. Numeroasele cercetări de control la indivizi cu același sindrom nu au reușit însă să confirme existența trizomiei. Mai tîrziu s-a dovedit că acest copil avea cariotip XYY. Celelalte cazuri în care s-a descoperit un cromozom 22 suplimentar sînt mult prea deosebite unul de celălalt pentru a afirma că există un sindrom de trizomie 22. A fost remarcat, de pildă, într-o schizofrenie, la un individ cu înapoiere mintală, într-o distrofie miotonică și într-o amiotonie congenitală. Noi am întîlnit un mozaic normal/trizomie 22 la un copil cu malformații multiple.

Scanned with OKEN Scanner

Aberaţiile de formă ale cromozomilor. Cercetările de citogenetică au arătat că anomaliile de formă ale cromozomilor antrenează tulburări importante ale dezvoltării somatice şi gonadale. Importanţa acestor tulburări este condiţionată de rolul pe care îl are cromozomul lipsă sau suplimentar în economia organismului.

În general, modificările de formă ale autozomilor sînt mai grave decît cele ale gonozomilor. Deleţiile gonozomiale tulbură dezvoltarea gonadelor. De obicei, bolnavele cu deleţii X prezintă aceleaşi tulburări ca şi femeile cu cariotip XO sau XO/XX.

Foarte rar s-au observat bolnave care aveau un cromozom în formă de inel. De cele mai multe ori, acest cromozom era X (Lindsten, 1963). În aceste cazuri, malformaţiile sînt asemănătoare celor întîlnite în sindromul Turner.

Frecvente sînt translocaţiile. Cele mai obişnuite exemple le constituie fuziunile acrocentricilor 13—15 cu 21—22, aşa cum se observă în sindromul Down. Se mai cunosc translocaţii între cromozomi din grupa D şi între cromozomi din grupa C.

Un loc important în seria anomaliilor de formă îl ocupă izocromozomii X. Această aberaţie a fost întîlnită frecvent la femeile cu tulburări ale dezvoltării gonadelor.

BIBLIOGRAFIE

Barr, M. L., E. G. Bertram, „Nature", 1949, 163—676.

Barr, M. L., E. L. Shaver, D. H. Carr, E. R. Plunkett, „J. Ment. Def. Res", 4, 1960, 89.

Bergemann, E., „J. Génet. hum.", 10, 1961, 370.

Carr, D. H., „Lancet", II, 1963, 603.

Decourt, L., W. Sasso, E. Chiorboli, J. H. Fernandes, „Rev. Assoc. med. Brazil", 1, 1954, 203.

Edwars, J. H., D. G. Harnden, A. H. Cameron, V. M. Grosse, O. H. Wolff, „Lancet", 1, 1960, 787.

Efroimson, V. P., *Embriopatiile cromozomiale la om,* în *Probleme de genetică,* Bibl. Anal. rom. sov. med., 1963, 99.

Ford, C. E., K. W. Jones, P. E. Polani, J. C. Almeida, J. H. Briggs, „Lancet", 1, 1959, 711.

Ford, C. E., „Proc. Roy. Soc. Med.", 53, 1960, 491.

Fraccaro, M., J. Lindsten, „Lancet", II, 1960, 1303.

Scanned with OKEN Scanner

Hauschka, T. S., J. E. Hasson, M. Goldstein, G. Koepf, A. Sandberg, „Am. J. Hum. Genet.", 1962, 14—22.
Hayward, M. D., B. D. Bower, „Lancet", 1, 1961, 558.
Hungerford, D. A., A. J. Donnelly, P. C., Nowell, S. Beck, „Am. J. Hum. Genet.", 11, 1959, 215.
Hungerford, D. A., P. C. Nowell, „J. Nat. Canc. Inst.", 27, 1961, 983.
Idem, „J. Nat. Canc. Inst.", 29, 1962, 545.
Jacobs, P. A., J. A. Strong, „Nature", 183, 1959, 302.
Jacobs, P. A., A. G. Baikie, W. M. Court Brown, D. N. Mac Gregor, M. Mac Lean, D. G. Harnden, „Lancet", II, 1959, 423.
Ionescu, B., P. Strihan, M. Ciovirnache, C. Maximilian, „Stud. cercet. endocrinol.", 4, 1965, 397.
Lejeune, J., R. Turpin, M. Gautier, „Bull. Acad. Nat. Med.", 143, 1959, 256.
Lejeune, J., J. Lafourcade, J. Grouchy, R. de Berger, M. Gautier, Ch. Salmon, R. Turpin, „Sem. Hôp. Paris", 1964, 4—1069.
Lindsten, J., *The Nature and origin of X chromosome abberations in Turner's syndrome,* Almquist Wiksells, Uppsala, 1963.
Maximilian, C., Șt. M. Milcu, *Citogenetica medicală,* în „Probleme de genetică", Bibl. Anal. rom. sov. med., 1963, p. 81.
Maximilian, C., D. Ioaniţiu, I. Iliescu, M. Augustin, „Com. Acad. R.P.R." 1962, XIII, 9, 843.
Milcu, Șt. M., C. Maximilian, B. Ionescu, P. Strihan, I. Iliescu, M. Augustin, „Folia endocr", XVI, 5, Pisa, 1963, 500.
Milcu, Șt. M., I. Negoescu, M. Garoiu, I. Iliescu, M. Augustin, C. Maximilian, „Hum. Chrom. Newslett", 1963, 9, 20.
Milcu, Șt. M., D. Stoenescu, C. Maximilian, Al. Damian, A. Muster-Danila, I. Iliescu, M. Ghiur, „Hum. Chrom. Newslett", 12, 1964, 10.
Milcu, Șt. M., V. Stănescu, I. Florea, M. Augustin, C. Maximilian, „Ann. end.", 1, Paris, 1964, 77.
Milcu, Șt. M., B. Ionescu, P. Strihan, C. C. Parhon, I. Iliescu, C. Maximilian, „Rev. roum. endocr.", II, 2, 1965, 185.

Scanned with OKEN Scanner

13

Radiogenetica

După ce Bequerel descoperă, în 1896, proprietăţile minereurilor de uraniu şi Rutherford deosebeşte particulele corpusculare de radiaţiile electromagnetice, fizica şi chimia radiaţiilor se dezvoltă din ce în ce mai rapid.

În anii următori, Maria Sklodovska Curie, Pierre Curie, Schmidt, Otto Hahn au observat că şi alte elemente (radiu, toriu, poloniu, actiniu) emit radiaţii. Astfel, în perioada 1903—1906 se descoperă 40 de elemente radioactive, iar în 1912, după ce descoperă elemente cu acelaşi număr de ordine, dar cu masă diferită, Soddy introduce noţiunea de izotop.

Paralel cu acumularea cunoştinţelor despre materialele radioactive se dezvoltă noţiunile teoretice şi se lărgeşte sfera de aplicabilitate a radiaţiilor X, descoperite de Roentgen.

Efectele biologice ale radiaţiilor au fost remarcate spre sfîrşitul secolului trecut. În 1905 se ştia deja că iradierea antrenează tulburări somatice importante. Efectele mutagene au fost descoperite mult mai tîrziu. În 1927, Müller reuşeşte să obţină mutaţii la drosofilă cu ajutorul radiaţiilor X. Datorită acestor cercetări începe să se desprindă din genetică un nou capitol — radiogenetica. Scopul ei este de a studia efectele mutagene ale diferitelor tipuri de radiaţii naturale şi artificiale şi de a aprecia rolul radioactivităţii în patologia contemporană.

Întreaga evoluţie a omului s-a desfăşurat într-un mediu cu radioactivitate naturală. Totuşi, dozele pe care le-au primit sau le primesc oamenii sînt departe de a fi egale. Sintetizînd datele cunoscute pînă în prezent, Abbott observa că doza medie obişnuită pe care o primesc gonadele este de 75 mr/an. În regiunile granitice ale Franţei doza creşte la 190 mr/an. În India, în statul Kerala, ea atinge 800 mr/an, iar în regiunile vulcanice din Brazilia, ea se ridică la 12 000 mr/an.

Doza de iradiere este determinată şi de alţi factori. Astfel, la altitudine doza este mai mare decît la nivelul mării. De aseme-

Scanned with OKEN Scanner

nea, în Suedia doza de iradiație primită într-o casă construită din materiale solide este de patru ori mai mare decît cea primită pe stradă.

Sursa de iradiere	*Doză-gonadă*
A. Iradiere externă	
Raze cosmice (la nivelul mării)	0,028
Radiații gamma locale	0,043
Radon în aer 3×10^{-13} c/l	0,001
B. Iradiere internă	
Potasiu 40	0,020
Carbon 14	0,001
Radon și produse de dezintegrare 3×10^{-13} c/l	0,002
Doza totală pe an	0,095
Doza pînă la vîrsta de 30 de ani	2,85

O dată cu descoperirea și, mai ales, cu utilizarea radiațiilor artificiale, expunerea omului a crescut considerabil. Estimările făcute în 1956 de către Comisia O.M.S.-ului au arătat contribuția pe care o au diversele utilizări ale energiei radiante la creșterea dozei gonadale.

Sursa de iradiere	*Doză-gonadă estimată în procente față de radiațiile naturale de bază*
Radiația naturală de bază	100
Diagnostic radiologic	cel puțin 22
Radioterapie	?
Încercare radiologică a încălțămintei	0,1
Ceasuri și pendule fosforescente	1
Televiziune	mult mai puțin de 1
Zbor la mare altitudine	nesemnificativ
Expunere profesională, radiologie și industrie	cel puțin 1,6
Energie atomică	0,1
Căderi radioactive	mai puțin de 1

Scanned with OKEN Scanner

Dintre toate formele de radiații artificiale, cele mai importante rămîn radiațiile Roentgen. S-a apreciat că iradierea medicală în doză-gonade adaugă iradierii naturale valori apreciate între 10% (Martin, 1955) și 58% (Clark, 1956). După toate probabilitățile însă, doza medie este de aproximativ 22%. Cercetările comparate au arătat că aceste valori sînt în creștere continuă. Numărul investigațiilor radiologice s-a amplificat continuu în toată lumea. În Anglia și în Țara Galilor frecvența lor a crescut în fiecare an cu 12%. Dintre acestea, examenele bazinului, ale vertebrelor sacro-lombare și ale căilor urinare, deși constituie numai 7% din numărul total al investigațiilor, formează 75% din totalul doză-gonadă. Același fenomen a fost observat și în țara noastră. Între 1953 și 1962 numărul examenelor radiologice a crescut de la 100% la 148% (Racoveanu).

Doza gonadală variază de la o țară la alta, de la o unitate medicală la alta. Astfel, s-a apreciat că în 1956 la New York fiecare locuitor a primit 100 mr/an. În Elveția doza a fost aproape egală, de 110 mr/an.

Doza de radiații pe care o primesc gonadele în timpul expunerii medicale este variabilă. Ca principiu general trebuie admis faptul că, indiferent de natura explorării radiologice, gonadele primesc o cantitate oarecare de radiații. Cele mai periculoase rămîn examenele efectuate în timpul sarcinii, cînd doza administrată poate să crească pînă la 2 500 r.

Modul de acțiune al radiațiilor

Radiațiile cu efect mutagen au fost împărțite în: radiații electromagnetice (radiații X și radiații gamma), radiații corpusculare (radiații α, β, protoni și neutroni) și radiații neionizante (radiațiile ultraviolete).

Modul de acțiune al radiațiilor este diferit. Radiațiile corpusculare (α, β) acționează asupra corpurilor pe care le străbat printr-un puternic efect de ionizare. Aceste fenomene au loc prin cedarea energiei acestor particule și producerea unui cîmp electromagnetic care scoate electronii din învelișurile exterioare ale atomilor, producînd așa-numita ionizare primară. Acești electroni au o energie cinetică foarte mare, de aceea continuă,

Scanned with OKEN Scanner

la rîndul lor, procesul de ionizare (ionizare secundară). La nivel biologic, deosebit de importantă este acțiunea particulelor β, care nu sînt altceva decît electroni pozitivi sau negativi. Mișcîndu-se cu viteze foarte mari și avînd o putere de pătrundere mare, acești electroni conduc la ionizări mai puternice.

Acțiunea nocivă a radiațiilor asupra organismului se datorește interacțiunii dintre radiații și materia vie. În urma iradierii se produc modificări complexe, care pot merge pînă la distrugerea totală a funcțiilor celulare.

Pentru a explica acțiunea radiațiilor s-au emis două ipoteze importante. Prima, cunoscută sub numele de teoria țintei sau teoria sarcinii, susține că în urma unei ionizări se eliberează o cantitate locală de energie, care este suficientă pentru a avea efecte asupra organismelor. Modificările biologice apar din ruperea echilibrului într-o regiune relativ mică din jurul punctului de acțiune, numită țintă. Prin trecerea unei singure particule printr-un sistem biologic se produce o eliberare de energie care duce la pierderea funcției volumului afectat. Pierderea funcției se datorește dereglării proceselor metabolice și în special modificării acțiunii catalitice a enzimelor. În cazul în care în fiecare unitate este inactivată o singură structură, teoria țintei susține că scăderea funcției măsurate după iradiere va fi o funcție exponențială a dozei, prin unitate înțelegîndu-se un grup de molecule de enzime capabile să catalizeze o reacție specifică. În prezent nu se cunoaște complet mecanismul de acțiune al radiațiilor la nivel molecular. Datele actuale arată totuși că acțiunea radiațiilor se exercită atît asupra mediului uscat proteic, cît mai ales asupra apei din țesuturi. Se presupune că inactivarea proteinelor se datorește unui transfer de energie într-un anumit punct al moleculei, cu schimbarea legăturii covalente. Acțiunea radiațiilor este însă mult mai puternică asupra apei din structura celulelor vii. Se admite că primul fenomen pe care-l provoacă ionizarea constă în transportul unui electron din fiecare ion de hidroxil în molecula oxigenului, care devine astfel dublu ionizată:

$$2\ OH + O_2 \rightarrow H_2O_2 + \begin{matrix} O- \\ | \\ O- \end{matrix}$$

Molecula de oxigen ionizată reacţionează cu ioni de hidrogen formînd apa oxigenată.

$$\begin{matrix} O^- \\ | \\ O^- \end{matrix} + 2\,H^+ \rightarrow H_2O_2.$$

Apa oxigenată duce la scăderea pH-ului, deci la o creştere a acidităţii. Astfel, distrugerile moleculare se produc direct, prin eliberarea energiei în însăşi structura moleculei, şi indirect, prin formarea unor agenţi puternic reactivi care, cu ajutorul apei, se răspîndesc în celulă. Ei acţionează asupra unor anumite locuri critice scăzînd sau chiar distrugînd funcţionalitatea organitelor celulare. Nucleolii, mitocondriile şi aparatul Golgi sînt afectate în mod deosebit de acţiunea radiaţiilor. Ruperea echilibrului dinamic duce la alterarea proceselor metabolice caracteristice vieţii.

Acest ultim mod de acţiune a fost dezvoltat în cadrul celei de-a doua ipoteze, cunoscută sub numele de teoria radicalilor liberi. Această teorie pare să explice mai larg interacţiunea radiaţii-substanţa vie. Ea susţine că modificările din structura celulei se datoresc radicalilor liberi de hidrogen şi oxigen. Conform acestei teorii, radiaţia scoate un electron din molecula apei, care se uneşte apoi cu o altă moleculă dînd naştere la două molecule de apă ionizate. Aceste molecule, datorită instabilităţii radicalilor H şi OH, se descompun. Cei doi radicali oxidril se unesc şi formează apa oxigenată. Radicalii liberi de hidrogen pot intra în combinaţie cu diverşi produşi celulari:

H_2O^+	H_2O^-
H_2O^+	$H^+ + OH$
H_2O	$H + OH^-$
$2\,OH$	H_2O_2
$2\,H$	H_2
$Fe^{++} + OH$	$Fe^{+++} + OH^-$

Astfel, radicalul OH poate oxida fierul bivalent în fier trivalent şi ioni oxidrili.

Chiar în cantităţi foarte mici, apa oxigenată şi produşii de descompunere ai apei pot acţiona asupra sistemului celular, de-

Scanned with OKEN Scanner

reglîndu-i funcționarea normală. Frînarea activității enzimelor, în special a celor ce participă la sinteza proteinelor, distruge echilibrul chimic din celule. S-a demonstrat că apa oxigenată distruge grupa SH din fermenții sulfhidrilici. Datorită modificărilor din structura acizilor nucleici au loc tulburări în sinteza proteinelor. De asemenea, au loc și alte procese chimice care completează tabloul modificărilor apărute în urma iradierii: eliberarea dezoxiribonucleazei din mitocondrii, creșterea citocromoxidazei și a proceselor de oxidare și fosforilare din mitocondrii, scăderea fosforilării oxidative, inhibarea formării trifosfaților nucleotidici, inhibarea sintezei ADN-ului etc.

Dacă la iradierea externă era mai puternică influența radiațiilor γ, datorită puterii lor mari de pătrundere, în cazul introducerii unor corpi radioactivi în organism pericolul devine mai puternic cînd acționează radiațiile β și α. Acțiunea nocivă a radiațiilor este determinată și de alți factori: modul de pătrundere în organism, activitatea izotopilor, tipul radiației, energia și timpul de înjumătățire, localizarea în organism și viteza de eliminare etc.

Ținînd seama de aceste caracteristici, izotopii pot fi: mai puțin periculoși, cum sînt: Na^{24}, K^{42}, Cu^{64}, Mn^{52}; periculoși: ca H^3, C^{14}, P^{32}, Na^{22}, S^{35}, Cl^{36}, și foarte periculoși: Ca^{45}, Fe^{55}, Sr^{90} etc.

Din momentul iradierii și pînă la apariția efectelor biologice trece un interval de timp relativ lung, de la cîteva ore la cîteva luni sau chiar ani, cunoscut sub numele de perioadă de latență, în care modificările de ordin fizic și chimic determină modificări de ordin morfologic sau funcțional. După trecerea acestei perioade, modificările primare care apar în celule sub influența radiațiilor, și care inițial nu produc probabil o distrugere importantă a funcțiilor vitale ale celulei, duc ulterior la o distrugere a organismului. Așadar, efectul biologic este rezultanta interacțiunii proceselor antagoniste de lezare-refacere. Nu s-au putut preciza încă cu certitudine o serie de fenomene care ar permite determinarea unei relații cantitative exacte între factorul fizic (doză) și cel biologic (efect). Dificultatea constă în însăși cuantificarea elementelor de răspuns biologic al materiei vii față de acțiunea radiațiilor.

Efectul biologic este diferit, în funcție de doza primită, de natura țesutului iradiat, de însușirile fizico-chimice ale radia-

ției, de radiosensibilitatea țesutului, de distribuția spațială și temporală a energiei în organism și de variațiile densității de ionizare.

Efectele radiațiilor. Efectele nocive ale iradierii generale se cunosc de multă vreme. După bombardamentele de la Hiroshima și Nagasaki, ca și în urma celor cîteva accidente de la reactoarele nucleare, a fost amplu descrisă boala de iradiere la om. În aceste împrejurări s-a stabilit că doza letală (DL) la om este de 600 r. Moartea apare însă și după iradieri generale cu mai mult de 200 r. Sub 100 r moartea nu survine aproape niciodată, deși simptomele bolii de iradiere sînt evidente. De asemenea, sînt binecunoscute efectele cancerigene ale iradierilor generale.

La Nagasaki s-a stabilit o relație liniară între iradierea cu mai mult de 100 r și leucemie. Efectul leucemogen a fost probat și de cercetările întreprinse în rîndul radiologilor din S.U.A., al copiilor iradiați în scop terapeutic și al bolnavilor cu spondilită anchilozantă tratați cu radiații X.

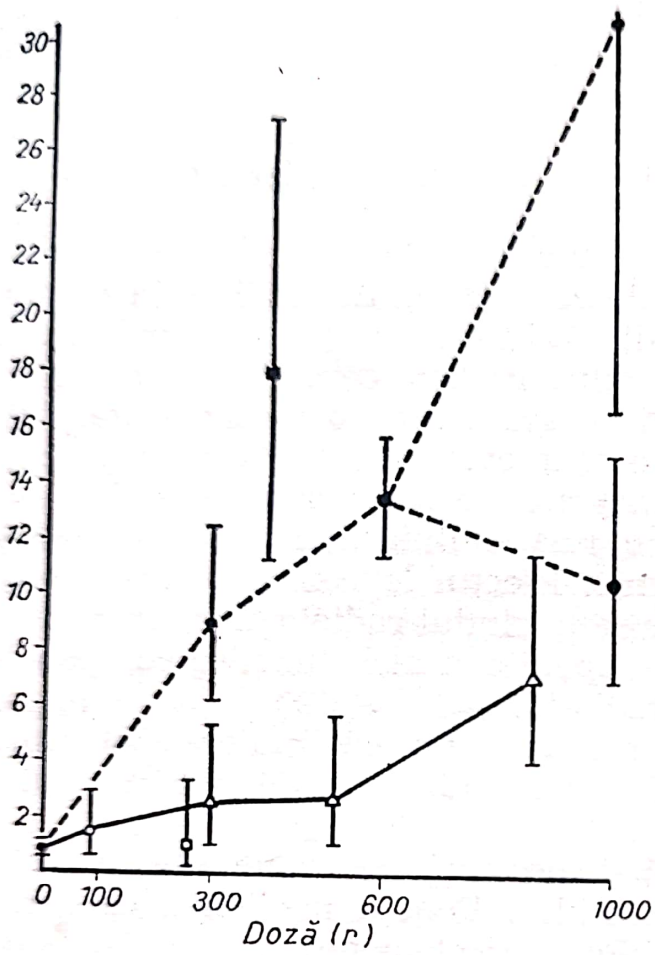
Mai puțin așteptată a fost constatarea că iradierea cu 100 r scurtează viața omului cu 5%, iar iradierea cu 1 r a întregului organism reduce viața cu 10 zile.

Alte numeroase observații și cercetări experimentale au subliniat rolul teratogen al iradiațiilor. Pentru medicină, cele mai importante efecte ale radiațiilor sînt cele genetice.

Acțiunea mutagenă a radiațiilor a fost descoperită de Müller în 1927. În deceniile următoare s-au efectuat numeroase experiențe pe drosofilă și pe șoareci, care au permis să se stabilească relația dintre doza de radiații, incidența mutațiilor și factorii care favorizează rata de mutații.

Pentru genetica umană, cele mai interesante rezultate sînt cele obținute în 1958 de către Russel, la șoarece, prin metoda locusului specific. El a încrucișat șoareci iradiați cu șoareci homozigoți pentru șapte gene recesive: Non-agouti (a), Brown (b), Chinchilla (c^{ch}), Dilute (d), Pink-eyed dilution (p), piebald (s) și Short-ear (se). În ipoteza că animalele iradiate au suferit o mutație pentru unul dintre aceste caractere, atunci descendenții manifestă caracterul respectiv. Se consideră, de asemenea, și noile mutații cu caracter dominant. Înregistrîndu-se numărul de animale care provin din părinți iradiați, și care

Scanned with OKEN Scanner



75. Rata de mutaţie a locusurilor specifice la şoareci; linia continuă reprezintă administrarea acută de radiaţii X (80—90 r/min); linia punctată —administrarea cronică de radiaţii; triunghiuri şi pătrate — 90r/săptămînă; cerc — 10r/ săptămînă (după Russel)

prezintă noul caracter, şi cele din seriile de control se poate calcula rata de mutaţie pentru fiecare locus. S-a precizat astfel că există o relaţie liniară între doză şi efect. Numeroase studii experimentale la drosofilă au arătat că această curbă este liniară, de la o doză inferioară la o doză superioară, dar relaţia poate fi pusă în evidenţă numai pentru mutaţiile dominante şi letale recesive. Limita inferioară pare să varieze de la o specie la alta. La drosofilă ea este de 5 r sau chiar 1 r, iar la *E. coli*, de 8,5 r. O concluzie importantă a acestor cercetări a fost descoperirea faptului că la drosofilă relaţia se menţine, indiferent dacă iradierea a fost acută sau cronică. Totuşi, observaţia nu poate fi generalizată. La şoarece, dozele mari administrate acut pe spermatogonii antrenează o rată mai mică de mutaţii decît cea aşteptată teoretic.

RATA DE MUTAŢII PE UN LOCUS SPECIFIC, DUPĂ IRADIEREA ACUTĂ CU RADIAŢII X A SPERMATOGONIILOR DE ŞOARECE (DUPĂ RUSSEL)

Doza	Nr. de descendenţi	Mutaţii pe locus specific	Rata mutaţii locus-gamet	Rata mutaţii r/locus
0	183 213	9	$0{,}70\times 10^{-5}$	—
300	40 408	25	$8{,}85\times 10^{-5}$	$2{,}84\times 10^{-7}$
600	119 326	111	$13{,}29\times 10^{-5}$	$2{,}08\times 10^{-7}$
1000	31 815	23	$10{,}33\times 10^{-5}$	$0{,}95\times 10^{-7}$
600+400	4 698	10	$30{,}40\times 10^{-5}$	$2{,}97\times 10^{-7}$

Liniaritatea reapare dacă doza de 1 000 r este administrată în două doze, una de 600 r şi alta de 400 r, după terminarea perioadei sterile.

Administrarea îndelungată de radiaţii gamma determină la şoarecele mascul o rată de mutaţie de patru ori mai mică decît administrarea aceleiaşi doze într-un interval foarte scurt.

RATA DE MUTAŢIE PE UN LOCUS SPECIFIC, DUPĂ IRADIEREA CRONICĂ CU RADIAŢII GAMMA A SPERMATOGONIILOR DE ŞOARECE (DUPĂ RUSSEL)

Doza	Nr. de descendenţi	Mutaţii pe locus specific	Rata mutaţii locus/gamet	Rata mutaţii r/locus
0	105 403	8	$1{,}08\times 10^{-5}$	—
0*	117 727	8	$0{,}97\times 10^{-5}$	—
37,5*	63 322	6	$1{,}35\times 10^{-5}$	$1{,}01\times 10^{-7}$
86	48 500	6	$1{,}77\times 10^{-5}$	$0{,}80\times 10^{-7}$
516	20 752	4	$2{,}75\times 10^{-5}$	$0{,}32\times 10^{-7}$
861	20 993	9	$6{,}12\times 10^{-5}$	$0{,}59\times 10^{-7}$

* După Carter

La femelă, disproporţia dintre mutaţiile care apar după iradierea acută şi cronică este şi mai netă.

O altă concluzie importantă a cercetărilor experimentale a fost stabilirea faptului că nu există prag-limită sub care radiaţiile să nu fie nocive. Chiar cele mai mici doze se cumulează şi antrenează apariţia mutaţiilor. O dată apărute, mutaţiile tind

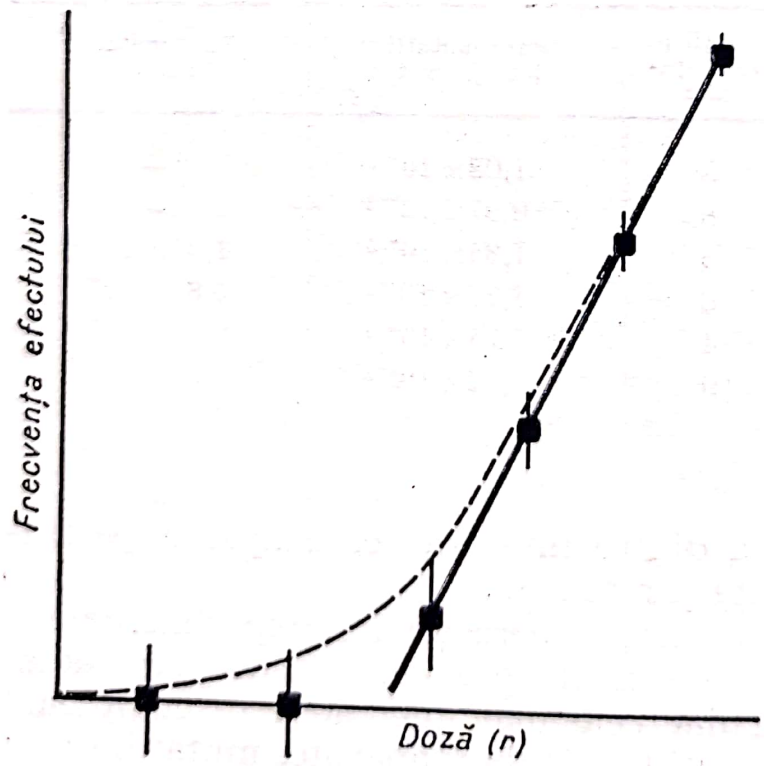
Scanned with OKEN Scanner

să devină permanente. Mutaţiile dominante şi cele recesive legate de sex se vor manifesta în prima generaţie. Mutaţiile recesive vor apărea însă mai tîrziu, după mai multe generaţii, cînd, prin jocul întîmplării, se vor găsi în stare homozigotă.

În sfîrşit, cercetările experimentale au arătat că doza de dublare, doza necesară pentru a dubla numărul de mutaţii pe generaţie, este condiţionată de administrarea acută sau cronică a radiaţiilor. Prin comparaţie, se admite că la om doza medie de dublare pentru radiaţia cronică este probabil de 30 r, dar poate fi cuprinsă între 10 şi 100 r. Doza de iradiere acută este mai mică de 30 r, dar niciodată nu coboară sub 15 r.

Factorii care par să favorizeze apariţia mutaţiilor sînt multipli. Îi vom aminti pe cei mai importanţi.

Specia. Cercetări comparative efectuate la diferite specii de plante, de bacterii, la drosofilă şi la mamifere au demonstrat că fiecare specie are o sensibilitate specifică. Astfel, mamiferele sînt de şapte ori mai sensibile decît insectele, dar nu toate speciile sînt la fel de sensibile. În spermatozoizii de hamster se întîlnesc de aproape 30 de ori mai multe anomalii cromozomiale decît la iepuri. Sensibilitatea variază şi în cadrul aceleiaşi specii,



76. Diagramă care arată relaţia dintre doză şi efect (după Mole)

de la suşe la suşe, iar în cadrul aceleiaşi suşe, de la individ la individ. Doza letală oscilează de la o specie la alta. Astfel, la virusuri ea variază de la cîteva mii la 10 000 000 r. La bacterii doza este mult mai mică, de la cîteva zeci de mii pînă la 100 000 r sau mai mult, iar la mamifere este mai mică de 1 000 r. S-au descris suşe de şoareci la care doza letală variază între limite neobişnuit de largi (60—800 r). S-a arătat apoi că hibrizii sînt mai rezistenţi decît suşele pure.

Sexul. Efectele iradierii depind de stadiul gametogenetic. Cele mai sensibile stadii sînt cele de oocit şi de spermatogonii. La femela de şoarece, după 50 r se instalează o sterilitate permanentă. La masculi, sterilitatea este întotdeauna temporară, dacă, firește, doza administrată nu este egală cu doza letală.

Vîrsta. Incidenţa mutaţiilor creşte paralel cu vîrsta. Afirmaţia este susţinută de creşterea numărului de copii malformaţi şi de sporirea incidenţei copiilor cu anomalii cromozomiale născuţi din mame în vîrstă. De asemenea, se cunosc cîteva sindroame — acrocefalosindactilia sau arachnodactilia — care apar mai frecvent la copii născuţi din taţi în vîrstă. Incidenţa anomaliilor cromozomiale este mai mare la indivizii trecuţi de 35 de ani, decît la indivizii mai tineri.

Starea generală a individului. La indivizii cu stare generală deficitară, radiaţiile, chiar în doze mici, au influenţe mai puternice decît aceleaşi doze administrate unor indivizi cu stare generală bună. Se pare că în acest caz are importanţă şi timpul de administrare. Astfel, în 1963, Pizzarello a constatat că şobolanii anesteziaţi şi iradiaţi cu doze mari de radiaţii X în timpul nopţii mor în primele 13 zile după iradiere. Dacă sînt iradiaţi dimineaţa, supravieţuiesc pînă la 130 de zile. Observaţia a fost însă contestată în 1963 de Rugh.

Mutaţiile radioinduse sînt întru totul asemănătoare cu mutaţiile spontane. Această afirmaţie, sprijinită de cercetările experimentale pe drosofilă, pare să fie valabilă şi pentru om. De fapt, nu avem nici un motiv să nu generalizăm realitatea acestui fenomen, chiar dacă la şoarece pierderea cromozomului X este mult mai frecventă după iradiere decît în condiţii obişnuite.

Scanned with OKEN Scanner

Iradierea naturală și patologia umană

Dacă este întemeiată ipoteza că radiațiile naturale determină 10% din totalul mutațiilor spontane, atunci un procent egal din totalul patologiei umane de origine genetică se datorește radiațiilor naturale. Deși procentul pare mic, el este totuși impresionant dacă se raportează la totalul bolilor ereditare. Acesta este însă numai un punct de vedere. Dunham susține că toate mutațiile spontane care apar în fiecare generație sînt consecința iradierii naturale. În spiritul acestei ipoteze, întreaga patologie umană genetică are o singură explicație — radioactivitatea naturală. Ipoteza pare mai puțin probabilă, dar ea sugerează ideea că în realitate frecvența mutațiilor spontane generate de radioactivitatea naturală este foarte mare. (Această problemă va fi rezolvată atunci cînd se va cunoaște frecvența certă a mutațiilor spontane, frecvența per locus și numărul total de gene). Ca atare, studiul bolilor ereditare devine un capitol major al radiobiologiei.

Frecvența per locus este necunoscută. Se admite doar că rata de mutație este condiționată de sensibilitatea speciei. La drosofilă, o doză mare de radiații antrenează o rată de mutație de $1{,}5 \times 10^{-8}$ (1,5 mutații la 100 000 000 de gene) per roentgen. La șoarece frecvența este mult mai mare, și anume de $28 \times \times 10^{-8}$ per roentgen. Aceste valori sînt consecutive iradierii spermatogoniilor. Nu este exclus ca frecvența mutațiilor radioinduse la om să fie, mai mult sau mai puțin, similară celei găsite la șoarece. Este însă numai o simplă ipoteză.

Numărul total de gene a fost stabilit pe baze teoretice. Cifrele estimate sînt atît de variate, încît nu pot fi folosite decît rareori.

Efectele radiațiilor ionizante asupra omului pot fi studiate pe mai multe căi:

1. Studierea frecvenței malformațiilor printre descendenții persoanelor iradiate. Primele cercetări asupra incidenței copiilor malformați au fost publicate de Maurer (1933) și Murphy — Goldstein (1929). Observațiile lor nu sînt însă utilizabile, deoarece, așa cum remarca Lejeune, lipsesc date asupra familiei și mai ales seriile-martor.

Scanned with OKEN Scanner

În 1956, Neel și Schull au urmărit descendenții indivizilor iradiați în timpul bombardamentelor atomice de la Hiroshima și Nagasaki. Rezultatele cercetărilor lor au fost negative. Cam în același timp, Macht și Lawrence au studiat incidența malformațiilor printre copiii radiologilor. Lotul-martor era format din copiii medicilor de alte specialități. În prima serie frecvența malformațiilor a fost de 6,01%, iar în seria-martor de 4,82%. Diferența este semnificativă. Dar lucrarea a fost frecvent criticată pentru că autorii nu au diferențiat malformațiile care pot fi atribuite radiațiilor de cele generate de factorii de mediu. S-a remarcat totuși că incidența cardiopatiilor congenitale este semnificativ mai mare printre copiii radiologilor.

În 1960, în Japonia, Kitabatake a găsit printre descendenții a 246 de persoane iradiate profesional (cu radiații X) cinci copii malformați. În seria de control formată din 287 de copii născuți din părinți neiradiați, unul singur era malformat. Diferența este semnificativă. Într-o altă cercetare efectuată în R.P. Bulgaria, s-a observat că din cei 617 copii născuți din persoane care au fost iradiate profesional mai mult de un an, 17 erau malformați, deci 2,7%. În seria-martor incidența este de numai 0,6%. Printre femeile cu tuberculoză pulmonară care au primit doze relativ mari de radiații X și care ulterior au născut, incidența copiilor malformați este de 1,1%.

Aceste date au fost primite de asemenea cu rezerve. De pildă, Fraccaro afirmă că cea mai importantă obiecție care poate fi adusă acestor cercetări este lipsa unei serii-martor identice genetic. Dar asemenea serii nu se întîlnesc niciodată la om.

Rezultatele cercetărilor amintite sugerează totuși ideea că iradierea profesională mărește incidența malformațiilor congenitale, iar dacă aceasta nu este întotdeauna semnificativă, explicația rezidă în faptul că 95% dintre mutații sînt letale.

O ultimă grupă de cercetări s-au efectuat în regiunile cu fond radioactiv natural crescut. În 1959, Gentry a studiat incidența și răspîndirea malformațiilor congenitale în statul New York. El a remarcat că frecvența medie a acestora este de 1,32%. În localitățile cu radioactivitate terestră mare, frecvența crește la

Scanned with OKEN Scanner

2%. Aceasta este singura explicaţie plauzibilă a distribuţiei inegale a malformaţiilor congenitale. Intervenţia altor factori teratogeni nu pare probabilă. Celelalte cercetări efectuate în zone cu radioactivitate crescută sînt mai puţin demonstrative. Astfel, presupunerea că creşterea incidenţei malformaţiilor congenitale la populaţiile care locuiesc pe platourile înalte ar fi consecinţa iradierii cosmice nu are o bază faptică suficientă. În aceste regiuni mai intervine endogamia şi starea materială precară.

2. Apariţia mutaţiilor letale a fost sugerată de creşterea semnificativă a avorturilor (23%, după Naugeoka; 13,6%, după Löffler; 20%, după Wintz) la femeile căsătorite cu radiologi. În cazuri extreme s-a admis că apariţia mutaţiilor letale duce la sterilitate. Astfel, în studiul lui Nüremberg 43,3% din cele 30 de cupluri formate din medici căsătoriţi cu asistente în radiologie sînt sterile. Hickley şi Hall găsesc, de asemenea, că 36,6% din căsătoriile a 376 de radiologi sînt sterile. Aceste observaţii nu sînt admise însă fără rezerve. Astfel, în 1960, Turpin şi Lejeune constată că incidenţa sterilităţii induse de radiaţii este foarte greu de stabilit la om, deoarece fertilitatea populaţiilor actuale este considerabil mai mică decît fertilitatea lor potenţială. Alte fapte par să confirme ipoteza că sterilitatea nu este necondiţionat determinată de iradierea profesională. Astfel, sterilitatea definitivă nu apare decît la doze relativ mari, de 600 r la bărbaţi şi de 800 r la femei. Fecunditatea este însă modificată temporar de doze mult mai mici, şi anume de 30 r la bărbaţi şi de 300 r la femei. Asemenea doze nu sînt primite decît excepţional de rar.

În 1964, Mac Leod a urmărit cinci persoane iradiate accidental cu doze care variau între 236 şi 365 r. Cu excepţia unui singur individ, la care nu se poate exclude existenţa unor leziuni anterioare, fertilitatea a reapărut la 41 de luni de la iradiere. Ea a fost demonstrată prin biopsie testiculară şi prin prezenţa unui număr suficient de mare de spermatozoizi. În cazul unor doze mai mici, cuprinse între 12 şi 190 r, fertilitatea a reapărut după 20 de luni. În 1949, Robinson arată că la un tînăr expus unui bombardament extrem de scurt de neutroni, spermatoge-

Scanned with OKEN Scanner

neza s-a refăcut complet după cinci luni. Unii dintre acești indivizi au avut, după iradiere, copii normali. Firește, aceste date nu neagă posibilitatea ca multe cazuri de sterilitate să fie consecința mutațiilor letale.

3. Studierea frecvenței bolilor recesive legate de sex, posibilă, firește, numai la băieții mamelor iradiate, este foarte greu de realizat. Ea cere un număr mult prea mare de cazuri. Rămîne posibil numai studiul mutațiilor letale apărute pe cromozomul X. În acest caz, s-a plecat de la premisa teoretică că apariția genelor letale va modifica raportul dintre sexe la descendenții persoanelor iradiate. Dacă mutația are caracter dominant și apare pe cromozomul X patern, atunci se va observa o creștere a raportului băieți-fete (printr-o scădere a numărului de fete). Dacă aceeași mutație apare pe unul dintre gonozomii materni, raportul nu se va modifica. Numărul de băieți scade numai dacă mutația letală este recesivă. Pînă acum s-au efectuat cîteva mari cercetări care au urmărit raportul dintre numărul de fete și băieți la naștere (*sex-ratio*) la descendenții persoanelor iradiate (vezi p. 327).

Interpretarea acestor rezultate este foarte dificilă. Se pare că iradierea maternă reduce uneori *sex-ratio*, dar diferența nu este verificată din punct de vedere statistic. La descendenții rezultați din tați iradiați s-a observat o creștere a numărului de băieți atunci cînd iradierea s-a făcut cu doze mari și o scădere, atunci cînd iradierea s-a făcut cu doze mici. Creșterea *sex-ratio*-ului a fost atribuită mutațiilor dominante legate de sex. Scăderea raportului dintre sexe nu poate fi însă explicată.

Radiații și embriopatii

Numeroase cercetări de radiogenetică au demonstrat că radiațiile au efecte teratogene. Aceste efecte sînt condiționate de trei factori: gradul de dezvoltare a embrionului, doza administrată și specia. Primii doi factori sînt cei mai importanți.

Orarul embriologic are o valoare deosebită în geneza malformațiilor și a specificității lor. În dezvoltarea embrionului mamiferelor se disting trei perioade, fiecare perioadă avînd o reacti-

Scanned with OKEN Scanner

vitate specifică la acţiunea radiaţiilor. În prima perioadă, de preimplantare, oul sau moare, sau supravieţuieşte şi este normal. În condiţii experimentale s-a arătat că doza de 200 r ucide 80% dintre embrionii de şoarece aflaţi în a 10-a zi de viaţă intrauterină. Dacă doza este de 25 r, atunci sînt ucişi numai 38%.

Perioada embrionară este o perioadă de maximă sensibilitate. La şoarece ea cuprinde primele 15 zile; la om, primele 65 de zile de viaţă intrauterină. Dintre acestea, cele mai importante sînt primele 5 zile la şoarece şi perioada cuprinsă între fecundaţie şi a 38-a zi la om. Sensibilitatea organelor în această perioadă este inegală.

Astfel, Russel remarca că fiecare organ are o perioadă de maximă sensibilitate de o zi sau două. Iradierea în această perioadă induce un maxim de anomalii. De pildă, la şoarece anencefalia apare cu maximum de frecvenţă în ziua a 9-a; defectele oculare, în ziua a 10-a; hidrocefalia în ziua a 11-a; diverse anomalii cerebrale, în ziua a 12-a. Deoarece procesul de organogeneză este, în linii mari, comun tuturor mamiferelor, aceste observaţii pot fi extrapolate la om, ţinînd seama, firește, de perioada de organogeneză particulară fiecărei specii. După terminarea perioadei de organogeneză, acţiunea teratogenă a radiaţiilor scade.

Observaţiile directe asupra omului sînt relativ puţine. Mai importante rămîn cele efectuate asupra copiilor născuţi din mame iradiate în timpul bombardamentelor atomice de la Hiroshima şi Nagasaki. La Hiroshima, din cei 33 de copii iradiaţi (24 se găseau între a 7-a şi a 15-a săptămînă de viaţă intrauterină), 50% prezentau grave tulburări psihice. Intensitatea malformaţiilor congenitale a fost condiţionată şi de gradul de apropiere faţă de epicentrul exploziei. Printre copiii născuţi din mame care se găseau în momentul bombardamentului la mai puţin de 2 000 m de epicentru s-au întîlnit numeroase cazuri de microcefalie, de luxaţii congenitale de şold, de anomalii cardiace şi de hidrocel. La Nagasaki, din cele 30 de femei care se găseau la aceeaşi distanţă de locul exploziei, 25,4% au născut copii morţi şi 26% copii cu întîrzieri mintale grave.

Scanned with OKEN Scanner

SEX-RATIO LA COPII NĂSCUȚI DIN MAME IRADIATE (DUPĂ FRACCARO)

Țara	Control		doza în r	Iradiați	
	nr. de copii născuți vii	% băieți		nr. de copii născuți vii	% băieți
			circa 8	19 610	51,979
			75	3 958	51,440
Japonia	43 544	52,085	200	2 268	51,190
S.U.A.	—		50—200	407	49,1
Franța	355	54,6	200—400	161	44,7
	674	50,1	2— 10	797	52,2
Olanda	225	53,3	300—600	221	48,0

SEX-RATIO LA COPII NĂSCUȚI DIN TAȚI IRADIAȚI (DUPĂ FRACCARO)

Țara	Control		doza în r	Iradiați	
	nr. de copii născuți vii	% băieți		nr. de copii născuți vii	% băieți
	43 544	52,085	circa 8	5 168	51,587
			circa 60	1 126	53,263
			circa 200	753	52,722
Japonia	609	51,72	doze multe și necunoscute	4 201	53,64
	media în Japonia	51,24			
S.U.A.	3 491	52,42	doze multe și mici	4 247	51,39
Franța	1 185	51,5	200—400	656	56,1
	1 926	52,7	2— 20	1 394	46,0
Olanda	828	46,6	300—600	635	52,3
	657	52,3	1— 10	668	53,4

Scanned with OKEN Scanner

În aceleași orașe s-a constatat că 60% dintre copiii iradiați în stare embrionară prezintă o sensibilitate marcată la infecții și, implicit, un mare grad de morbiditate. Rolul teratogen al radiațiilor a mai fost demonstrat și de multe alte observații.

INCIDENȚA MALFORMAȚIILOR LA COPIII IRADIAȚI INTRAUTERIN

Perioada	Autorul			Procente pentru 35 de cazuri de malformați
	Kraemer		Schall	
	nr. de copii iradiați / nr. de copii malformați	%	nr. de copii iradiați	
0 — 2 luni	11/11	100	20	51
3 — 5 luni	7/11	64	11	31
6 — 9 luni	3/13	23	4	11

Analizînd datele din acest tabel se poate conchide că perioada de maximă sensibilitate la om se găsește în primele două luni, mai exact între săptămîna a doua și a șasea de viață intrauterină. Dacă iradierea are loc mai tîrziu se observă numai malformații ale sistemului nervos și ale gonadelor.

Malformațiile apar după doze relativ mici. De pildă, la șoarece frecvența malformațiilor crește vizibil la o doză de 25 r. Frecvența crește apoi paralel cu doza. Maximum de malformații apare la doze de aproximativ 400 r. Dar aceasta nu este o regulă generală. Tot la șoarece, cu 300 r se obțin malformații osoase la 93% dintre animalele iradiate. Dacă doza scade la 200 r, malformațiile osoase lipsesc. Așadar, acțiunea teratogenă necesită un prag. Oricum, la doze foarte mici, de ordinul a 1 r, riscul este minim sau nu există.

Trecînd în revistă malformațiile consecutive radiațiilor, se remarcă că cele mai multe sînt comune omului și animalelor de experiență: anencefalia, atrofia cerebrală, spina bifidă, anoftalmia și glaucomul. Numai cîteva sînt specifice omului: microftalmia, sindromul Down, întîrzierea mintală, idioția, hidrocefalia, deformările craniene, fanta palatină, piciorul strîmb, sinbrahidactilia și agenezia gonadală.

Paralel cu mutații gonadale, iradiațiile determină și mutații somatice. Astfel, în 1960, Lejeune a studiat modificările somatice ușor de decelat care se întîlnesc la copiii iradiați în stare embrionară. El a observat că heterocromiile sînt de zece ori mai numeroase decît la copiii-martor. De asemenea, la copiii iradiați apare frecvent o meșă de păr brun. La copiii-martor meșa nu a fost întîlnită niciodată. Meșa de păr alb nu a fost studiată, deoarece are un determinism genetic binecunoscut.

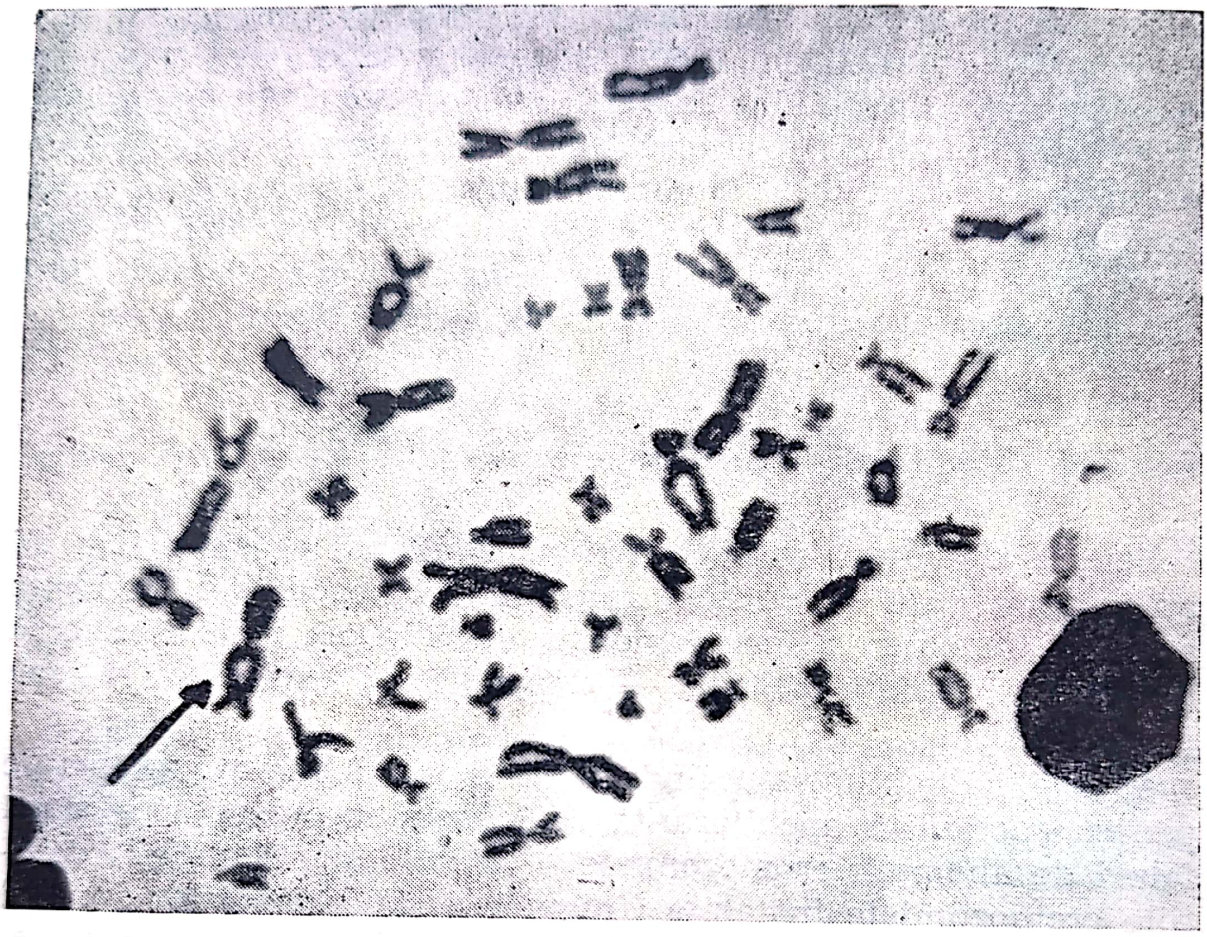
Radiații și anomalii cromozomiale

Se știe de multă vreme că după iradierea organismelor vii apar numeroase și variate anomalii cromozomiale. Existența aceluiași fenomen a fost demonstrată și la om prin cercetarea indivizilor iradiați medical — terapeutic și explorator — sau profesional.

În 1962, Buckton, studiind 58 de bolnavi iradiați terapeutic pentru spondilită anchilozantă, a constatat prezența a două feluri de anomalii cromozomiale — stabile și nestabile. Aberațiile cromozomiale instabile (fragmente sau cromozomi inelari) ating un maxim de frecvență după una-trei săptămîni de la iradiere, apoi incidența celulelor normale crește de la 60% la 90%, dar nu mai atinge incidența dinainte de iradiere. Unele dintre aceste anomalii se întîlnesc uneori la 5 sau chiar la 20 de ani de la iradiere, fapt care arată că în unele cazuri anomaliile cromozomiale, o dată instalate, devin permanente.

Anomaliile cromozomiale stabile (rearanjările) se întîlnesc relativ frecvent chiar și la cîteva luni după iradiere. În 1960, Tough a remarcat că, după 250 r administrați într-o singură doză pe coloana vertebrală, incidența celulelor normale scade de la 93% la 73%. Numărul celulelor cu 47 de cromozomi crește în același timp de la 1% la 20%. Totodată, se întîlnesc numeroase poliploidii. Maximum de celule anormale se găsește în ziua a treia de la iradiere. După ziua a cincea frecvența celulelor normale se apropie de frecvența dinainte de iradiere.

Scanned with OKEN Scanner

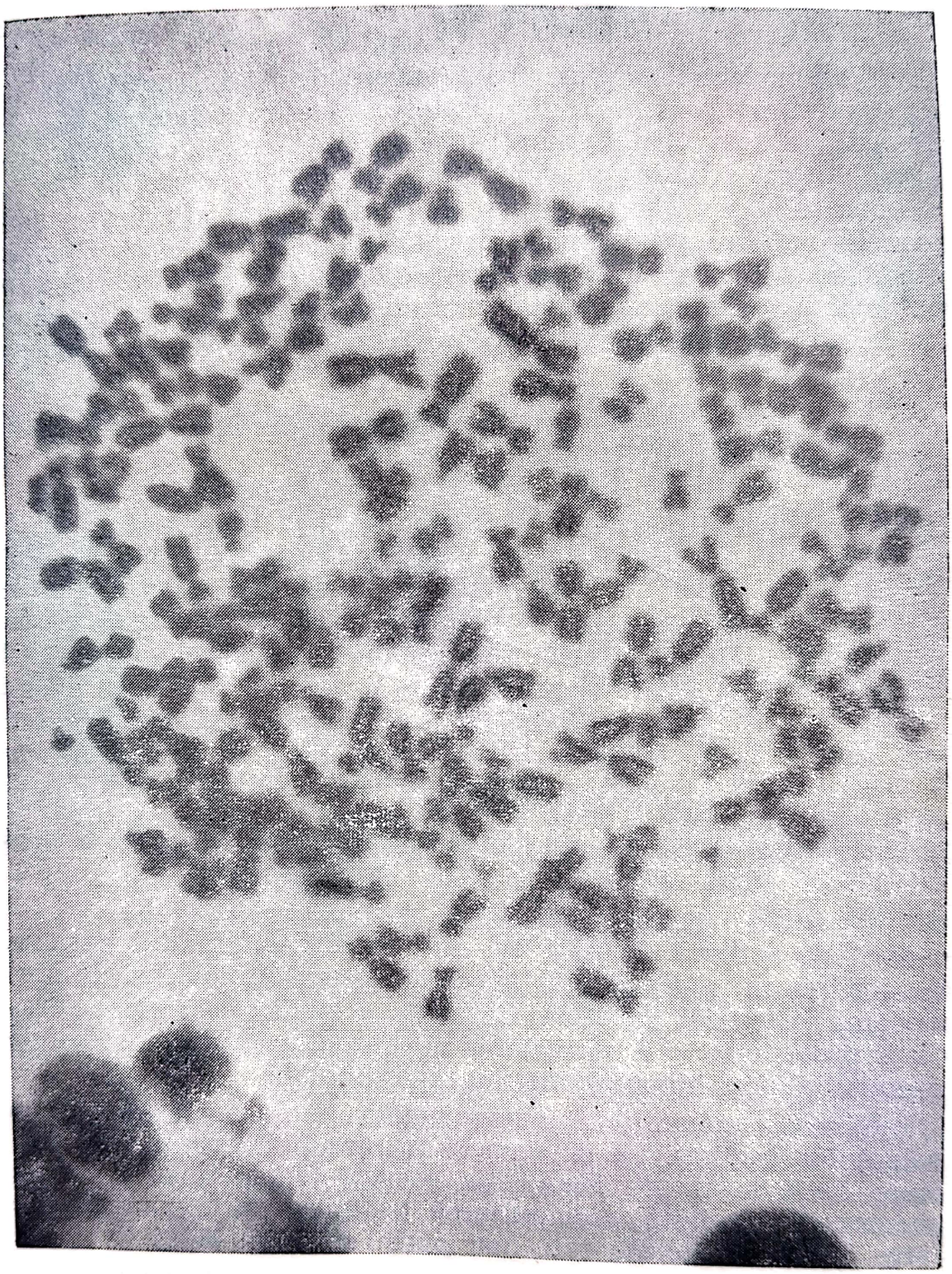


77. Celulă cu cromozom dicentric

Milcu a observat anomalii cromozomiale la indivizii cu acromegalie iradiaţi terapeutic pe hipofiză, iar Goodlin, după radioterapia pentru cancer a colului uterin. Conen a descris anomalii cromozomiale la un copil investigat radiologic cu o doză totală de 0,825 r. Stewart și Sanderson au observat cromozomi dicentrici la un bolnav cu sindrom Klinefelter, examinat radiologic cu puțin înainte de recoltarea sîngelui.

Efectele iodului radioactiv administrat terapeutic și exploator sînt la fel de evidente. În 1961, Boyd a studiat un bolnav care a primit 167 mc I^{131}. Cercetarea periodică a cariotipului a arătat că primele anomalii cromozomiale apar la 20 de minute după administrarea iodului. În primele 12 ore, incidența anoma-

Scanned with OKEN Scanner

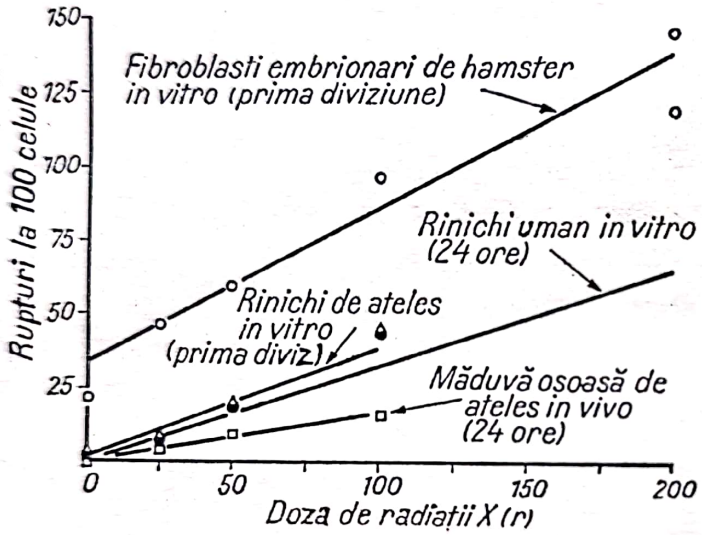


78. Poliploidie

Scanned with OKEN Scanner

liilor cromozomiale a fost foarte mare, de 44%. La 31 de ore după administrarea iodului, paralel cu scăderea radioactivităţii sîngelui, a scăzut la jumătate şi incidenţa celulelor anormale. În a 14-a zi se mai găseau încă 30,15% celule anormale.

Aberaţiile cromozomiale par să fie frecvente şi printre persoanele iradiate profesional. Sasaki a studiat un grup format din 15 indivizi. La 5 radiologi, care lucrau în această specialitate de peste 25 de ani, a întîlnit numeroase anomalii cromozomiale. La ceilalţi 10, care lucrau în laboratoare de izotopi şi primiseră



79. Frecvenţa aberaţiilor de cromatide după administrarea de radiaţii X (după Bender)

o doză de radiaţii de zece ori mai mare decît fondul natural, s-a întîlnit un mare număr de celule pseudodiploide şi de cromozomi dicentrici. În 1964, Caratzali a studiat 9 persoane iradiate profesional şi a remarcat şi el prezenţa a numeroase celule pseudodiploide, hipodiploide sau hiperdiploide.

Incidenţa anomaliilor cromozomiale pare legată de vîrsta bolnavilor iradiaţi. La persoanele în vîrstă, frecvenţa este mai mare decît la tineri. Explicaţia acestui fenomen ar fi că, la persoanele în vîrstă, recolonizarea ţesutului limfoid iradiat de către celule nealterate este mai puţin eficientă decît la tineri.

Importanţa genetică a anomaliilor cromozomiale consecutive iradierii rămîne incertă. În 1961, Uchida a studiat mamele a

81 de copii cu sindrom Down și a găsit că frecvența iradierilor preconcepționale este mai mare decît incidența găsită printre mamele copiilor din seria-martor. Concluzia lui a fost însă infirmată ulterior. Nici Carter (1961), nici Stevenson (1962) n-au reușit să găsească o corelație pozitivă între iradiere și nașterea de copii cu trizomie 21. Rezultatele cercetării lor sînt importante pentru că seriile studiate au fost mari: 51 în seria lui Carter și 179 în cea a lui Stevenson.

Anomaliile cromozomiale în culturile de țesuturi

Anomaliile cromozomiale apar deosebit de frecvent în culturile de celule de origine umană. De pildă, în culturile de celule de rinichi normal, iradiate cu doze care variau între 15 și 50 r, rata de mutație cromozomială a fost de 0,003 per celulă și per roentgen. În seria-martor, formată din celule neiradiate, frecvența anomaliilor cromozomiale era de 0,01 per celulă. Mai tîrziu, în 1957, Bender a arătat că frecvența mutațiilor este independentă de sexul și vîrsta bolnavilor de la care s-au prelevat țesuturile. În 1962, Böök afirmă că la 24 de ore după iradierea culturilor de celule pulmonare cu doze cuprinse între 9 și 136 r de cobalt radioactiv (Co^{60}) frecvența celulelor anormale este 0,10—0,15 per roentgen. Același fenomen a fost observat și la culturile de leucocite iradiate cu CO^{60}. După o singură doză de 400 r, un procent de 56,6% din celule prezintă diferite anomalii cromozomiale.

În condiții experimentale s-a arătat că sensibilitatea țesuturilor față de radiații este inegală. De pildă, celulele nervoase sînt mai sensibile decît cele renale.

S-ar putea ca numărul mutațiilor cromozomiale să fie mai mare decît cel stabilit, deoarece nu sînt detectate decît anomaliile care afectează mai mult de 10% din lungimea unui cromozom. De asemenea, unele aberații de formă — translocațiile reciproce sau inversiunile — nu sînt descoperite cu mijloacele optice actuale.

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

Abbatt, J. D., J. R. A. Lakey, D. J. Mathias, *Protection contre les radiations*, Masson, Paris, 1963.

Bacq, Z. M., P. Alexander, *Fundamentals of Radiobiology*, Compl. revised 2 ed., Pergamon, Oxford, 1961.

Bender, M. A., „Science", 126, 1957, 974.

Bender, M. A., P. C. Gooch, „Radiat. Res.", 14, 1961, 451.

Böök, J. A., M. Fraccaro, K. Fredga, J. Lindsten, „Acta Ge. Me. Ge.", XI, 4, 1962, 356.

Boyd, E., W. W. Buchanan, B. Lennox, „Lancet", 1, 1961, 977.

Buckton, K. E., P. A. Jacobs, W. M. Brown Court, R. Doll, „Lancet", 2, 1962, 676.

Carter, C. O., K. A. Evans, A. M. Steward, „Lancet", II, 1961, 1042.

Clark, S. H., „Bull. atom. Sci.", 12, 1956, 14.

Connen, P. E., A. G. Bell, H. Aspin, „Pediatrics", 31, 1, 1963, 72.

Dunham, Ch. L., „Wordls. Med. J.", 1963, 220.

Fraccaro, M., L. Tiepolo, „Pathol. Biol.", 21/22, 11, 1963, 1171.

Gentry, J. T., E. Parkhurst, G. V. Bulin, „Am. J. Public Health", 49, 4, 1959, 497.

Goldstein, L., D. P. Murphy, „Amer. J. Roentg.", 22, 1929, 322.

Goodlin, R. C., „Amer. J. Roentgen", 87, 1962, 555.

Heiss, V. „Wiener Med. Wschr.", 3, 1964, 64.

Kitabatake, T., „Nagoya J. Med. Sc.", 23, 1960, 227.

Lefebvre, J., „Sem. Hop." (An. Ped.), 1961, 50—51/8—9—2474/365.

Lejeune, J., R. Turpin, N. O. Rethoré, „IXth Intern. Congr. Radiol", 1960, 1089.

Lejeune, J., R. Turpin, N. O. Rethore, M. Mayer, „Rev. Franc. Etud. biol. clin.", 5, 10, 1960, 982.

Mac Leod, J., R. S. Hotchkiss, B. W. Sitterson, „J. A. M. A.", 187, 9, 1964, 637.

Macht, S. H., P. S. Lawrence, „Am. J. Roentg", 73, 1955, 442.

Martin, J. H., „Med. J. Austr.", 2, 1955, 806.

Scanned with OKEN Scanner

14

Farmacogenetica

Termenul de farmacogenetică a fost introdus în literatura medicală de Vogel, în 1959, și poate fi definit ca studiul variațiilor determinate genetic de acțiunea medicamentelor.

Cu ajutorul enzimelor, medicamentele sînt transformate în organism în produse secundare. Aceste enzime se află sub control genetic. Cum fiecare individ are o structură genetică particulară, înseamnă că el poate avea sau nu cantitativ și calitativ enzimele necesare biotransformărilor.

Deseori enzimele implicate în transformarea medicamentelor nu au un rol important în economia organismului, așa încît absența lor poate trece neobservată.

Consecințele deficiențelor enzimatice devin importante numai atunci cînd organismul trebuie să degradeze anumite substanțe. Alteori, așa cum vom vedea mai departe, hemoglobina prezintă o mică modificare structurală, modificare care în mod obișnuit nu are urmări deosebite, dar sub acțiunea unor medicamente ea se distruge ușor, fapt care are urmări clinice serioase.

În cele ce urmează vom prezenta cîteva realizări ale farmacogeneticii, una dintre cele mai noi ramuri ale geneticii.

Apa oxigenată și acatalazia

Takahara, medic otorinolaringolog japonez, operînd o fetiță de 11 ani care avea gangrenă la rădăcina unui dinte și sinuzită maxilară, a observat că sîngele care a venit în contact cu apa oxigenată folosită ca dezinfectant local a devenit imediat de culoare brună-neagră și nu a dezvoltat obișnuitele bule de oxigen. Acest fapt l-a făcut pe Takahara să presupună că hematiile bolnavei sînt deficitare în catalază, enzimă care degradează în mod normal apa oxigenată.

Scanned with OKEN Scanner

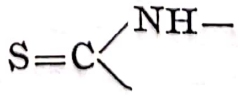
Investigaţii de laborator întreprinse asupra bolnavei, a familiei ei şi a altor bolnavi cu manifestări similare au confirmat această ipoteză.

S-a constatat cu acest prilej că majoritatea bolnavilor sînt descendenţi ai unor părinţi consanguini. Determinări precise ale activităţii catalazice sanguine au arătat prezenţa a trei fenotipuri: acatalazic, hipocatalazic şi normal. Totodată s-a demonstrat transmiterea recesivă autozomală a bolii. La acatalazici, enzima lipseşte din ţesuturile aparţinînd cavităţilor nazală, bucală, ficat şi măduva osoasă. În plus, cantitatea de coproporfirină şi alţi derivaţi bilirubinici excretată în urină este de cinci ori mai mare decît la indivizii normali.

S-a preparat pe iepuri un ser anticatalazic uman, în prezenţa căruia se obţin reacţii de precipitare cu sînge normal diluat de 1/125 ori. Asemenea reacţii nu se întîlnesc la acatalazici. Cercetările efectuate pînă în prezent sugerează ideea că formarea hemului este normală datorîndu-se probabil unei modificări structurale a catalazei (Evans, 1964). Totuşi, în 1961, Aebi a observat că eritrocitele acatalazice supuse iradierii cu radiaţii gamma acumulează mai multă methemoglobină decît eritrocitele normale. Manifestările clinice ale bolii apar numai la 50% dintre bolnavi şi constau în infecţii ale cavităţilor bucală şi nazală. La restul bolnavilor afecţiunea este asimptomatică.

Medicamentele utilizate pentru testele gustative şi genetice

Tiouracilul şi tiopentona. În 1932, Fox a preparat feniltiocarbamida (sinonimă feniltioureii sau PTC) şi a constatat că răspunsul gustativ variază mult la diferite persoane. Unii subiecţi identificau cu uşurinţă gustul amar al substanţei, pe cînd alţii percepeau acest gust numai în mică măsură. S-a stabilit că prima categorie de persoane, denumită gustători de feniltiocarbamidă, posedă gena care controlează caracterul dominant. Harris şi Kalmus (1950) au demonstrat că polimorfismul gustativ faţă de derivaţii tiouracilului şi tiopentonei poate fi corelat cu o grupare chimică din formula lor:



Între fenotipurile gustătorilor de feniltiocarbamidă și bolile tiroidiene există următoarele asociații: o mai mare incidență a negustătorilor printre subiecții cu gușă adenomatoasă și cretinism gușogen și o mai mare incidență a gustătorilor printre subiecții cu gușă difuză toxică (Kitchin, 1959). Studiile biochimice privind metabolismul metiltiouracilului și al tiopentonei nu au arătat deosebiri semnificative între gustători și negustători. Aceste rezultate pot fi explicate în două moduri: a) mecanismul biochimic de care depinde polimorfismul percepției gustative este răspîndit în tot corpul și are o valoare metabolică minoră, din care cauză nu a putut fi detectat prin studiile metabolice efectuate; b) mecanismul biochimic responsabil de polimorfismul percepției gustative este cantonat într-o parte bine localizată a corpului. Eficacitatea derivaților tiouracilici ca antitiroidieni și asocierea fenotipurilor cu boli tiroidiene constituie argumente în favoarea celei de-a doua ipoteze.

Chinina. În 1961, Fischer și Griffin au relatat o interesantă corelație între răspunsurile gustative față de propiltiouracil și chinină. Autorii menționați au găsit două tipuri de răspuns net diferențiate față de chinină la negustătorii de propiltiouracil. Această reactivitate bimodală față de chinină nu a putut fi demonstrată la gustătorii de propiltiouracil. Fischer și Griffin au observat că persoanele cu o mare sensibilitate gustativă testată prin propiltiouracil și chinină sînt mai predispuse la tulburări digestive decît cele cu o sensibilitate gustativă mai redusă.

Sulfamidele și hemoglobinopatiile. De mulți ani se știe că între complicațiile tratamentului sulfamidic se situează și accidentele hemolitice, al căror mecanism era necunoscut. Cercetări recente au demonstrat că apariția anemiilor hemolitice în cursul tratamentului cu sulfamide este condiționată de existența unor hemoglobine patologice. Pînă în prezent au fost identificate hemoglobina Zürich și hemoglobina H.

Hemoglobina Zürich. În 1960, Hitzig a descris două cazuri aparținînd aceleiași familii. Primul a fost o fetiță care la vîrsta de 7 luni și apoi la 3 ani a prezentat episoade hemolitice în urma tratamentului cu sulfamide (sulfizomidin). Copilul a revenit la normal după întreruperea medicației sulfamidice și efectuarea mai multor transfuzii. Al doilea caz a fost tatăl copilului, în

vîrstă de 27 de ani, care, după un tratament de trei zile cu sulfametoxipiridazin (1 g pe zi), a prezentat paloare, ușor icter, creșterea splinei, tulburări de circulație periferică, urini închise la culoare, scăderea hemoglobinei și creșterea bilirubinei serice. Evoluția după tratament a fost ca în primul caz. Pacientul mai prezentase și înainte episoade icterice, cînd nu i se administraseră medicamente.

Studii electroforetice au arătat că atît tatăl, cît și fata posedau un amestec de hemoglobină normală (HbA) și o hemoglobină patologică denumită hemoglobina Zürich. Aceasta se caracterizează prin mobilitate electroforetică între HbA și HbS (hemoglobina patologică din anemia cu celule falciforme). Studiul cromatografic al aminoacizilor din hemoglobina Zürich a arătat existența a trei peptide anormale, caracterizate prin înlocuirea histidinei din poziția 63 a lanțului β din molecula hemoglobinei cu arginină (Frick, 1962). La ceilalți membri ai familiei s-a constatat fie prezența HbA, fie prezența unui amestec de HbA și Hb Zürich.

Unii heterozigoți aveau anemie și subicter fără să li se fi administrat vreo medicație. Studii in vitro pe hematii încărcate cu crom radioactiv au arătat o liză patologică a acestora în prezența sulfamidelor, a unor derivați antimalarici (*prima-quin*), a 8 dimetilaminoantipirinei și a acidului oxichinoleinsulfonic. Medicamentele care conțineau acid acetilsalicilic și fenobarbital nu au avut un atare efect.

Hemoglobina H (HbH). Spre deosebire de hemoglobina normală A, care este formată din două lanțuri α și două lanțuri β (α_2 β_2), HbH are molecula constituită din patru lanțuri polipeptidice beta (β_4). Structura anormală a HbH explică prin proprietățile ei modificate (rapida denaturare și precipitare în capilare amplificată de oxidarea în methemoglobină) producerea de episoade hemolitice. Acestea pot fi declanșate de tratamente sulfamidice. În 1961, Rigas și Koller au relatat un caz de HbH, la care administrarea de sulfamidă a produs o rapidă scădere a curbei de supraviețuire a eritrocitelor, măsurată cu crom radioactiv. Acțiunea hemolitică a sulfamidei a fost demonstrată și in vitro, obținîndu-se precipitarea HbH și persistența în hemolizat numai a HbA.

Scanned with OKEN Scanner

Izoniazida și tuberculoza. Deși izoniazida (l-izonicotinil-hidrazida) a fost sintetizată în 1912 de Meyer și Mally, acțiunea ei bacteriostatică față de bacilul tuberculozei a fost descoperită abia după 40 de ani de către Grunberg. Numeroasele studii privind metabolismul izoniazidic la om au arătat existența a două tipuri de reactivitate metabolică, ceea ce sugera prezența a două fenotipuri: un inactivator rapid al izoniazidei, cu o concentrație plasmatică scăzută, și un inactivator lent al izoniazidei, cu valori plasmatice crescute. Determinismul genetic al polimorfismului de acțiune al izoniazidei a fost demonstrat atît prin studii efectuate pe gemeni monozigoți, unde s-a relevat același fenotip, cît și prin cercetări pe grupe mari de indivizi. S-a dovedit astfel că fenotipul inactivator rapid este mult mai răspîndit la japonezi decît la europeni.

În 1960, Evans și colaboratorii au urmărit valorile plasmatice ale izoniazidei la 484 de persoane cărora li se administrase o doză de 10 mg/kg corp. Ei au ajuns la concluzia că fenotipul inactivator lent se transmite recesiv autozomal. Factorii de absorbție intestinală nu explică diferențele dintre cele două fenotipuri, individualizarea lor putîndu-se face și prin administrarea de izoniazidă pe cale intravenoasă. Aceste diferențe metabolice depind de viteza diferită de acetilare a lor (Hughes, 1954). Biopsiile hepatice au arătat existența unei acetilări mai rapide la inactivatorii rapizi decît la inactivatorii lenți.

Fenotipul inactivator poate fi corelat cu trei probleme de tratament ale tuberculozei cu izoniazidă: 1) apariția polinevritei; 2) răspunsul bolii la administrarea bacteriostaticului; 3) dezvoltarea bacililor tuberculoși izoniazidorezistenți. Lucrările lui Hughes (1954) și Devadatta (1960) au stabilit o relație între fenotipurile inactivatorii ale izoniazidei și apariția polinevritei, în sensul că majoritatea bolnavilor care fac polinevrită aparțin fenotipului inactivator lent.

În 1961, Harris, urmărind 744 de cazuri, susține că închiderea cavernelor tuberculoase și negativarea sputei s-ar produce sub izoniazidă mai rapid la tipul inactivator lent. Ceilalți autori (Mc. Dermott și Evans) au arătat că tuberculoza tratată cu izoniazidă evoluează similar la cele două fenotipuri. De asemenea,

Scanned with OKEN Scanner

s-a stabilit că nu există o corelație între fenotipul inactivator al hidrazidei și dezvoltarea bacililor tuberculoși rezistenți la acest medicament.

Medicația antimalarică („prima-quin") și deficitul eritrocitelor în glucozo-6-fosfat-dehidrogenază

Curînd după ce *prima-quin*-ul a fost introdus în tratamentul malariei, s-a observat că el poate produce la unii subiecți o anemie hemolitică serioasă. Inițial, anemia hemolitică a fost considerată ca o manifestare alergică sau generată de un mecanism imun, dar toate cercetările privind evidențierea de anticorpi serici nu au dat rezultate. Întreruperea tratamentului timp de cîteva săptămîni duce la revenirea la normal a bolnavului. Dacă simptomele clinice nu sînt severe și ingestia de *prima-quin* continuă, bolnavul se ameliorează totuși în mod surprinzător. Acest fenomen va fi explicat ulterior.

În 1954, Dern și colaboratorii au transfuzat eritrocite marcate cu crom radioactiv de la subiecți sensibili la *prima-quin*, la subiecți normali. Supraviețuirea eritrocitelor a fost normală pînă la administrarea de *prima-quin*, cînd ele s-au lizat. În experiența inversă, eritrocite marcate cu crom radioactiv transfuzate de la martori la subiecți sensibili au supraviețuit normal după administrarea *prima-quin*-ului, chiar cînd eritrocitele persoanelor-gazdă au fost lizate de acțiunea lui. Studii ulterioare cu eritrocite de vîrste diferite marcate cu fier radioactiv, care proveneau de la subiecți sensibili la *prima-quin*, au arătat că medicamentul lizează hematiile mai vîrstnice (de 63—70 de zile), în timp ce eritrocitele tinere (de 8—21 de zile) nu sînt influențate de acțiunea lui. Această observație permite explicarea fenomenului clinic descris anterior. Cînd un subiect continuă să ia *prima-quin* o perioadă mai îndelungată de timp, în locul eritrocitelor distruse apare o populație eritrocitară tînără, a cărei durată medie de viață este mai mică decît cea anterioară, fapt care împiedică efectul hemolitic al medicamentului.

Cercetările biochimice au stabilit că anemia hemolitică prin *prima-quin* se datorește deficitului uneia dintre enzimele eritrocitare care intervine în metabolizarea glucozei, și anume a glu-

Scanned with OKEN Scanner

cozo-6-fosfat-dehidrogenazei. Acest deficit apare mai evident la eritrocitele bătrîne. Cercetări ulterioare au arătat că modificarea enzimei este cantitativă și nu calitativă. Nu se poate aprecia încă dacă numărul mai mic de molecule de glucozo-6-fosfat-dehidrogenază la persoanele sensibile la *prima-quin* se datorește unei destrucții crescute sau unei sinteze diminuate a enzimei (Kirkman, 1963).

Între valorile glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei la negri și la europenii care prezintă deficitul enzimatic respectiv există deosebiri marcante. Astfel, tulburările clinice sînt mult mai puternice la europeni, care prezintă totodată și o scădere a enzimei în leucocite. La aceștia manifestările hemolitice apar și față de alte medicamente decît *prima-quin* (acid paraaminosalicilic, chinină, chinidină, cloramfenicol, furadantin, fenacetină, probenecid și unele sulfamide). Modul de transmitere al glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei a fost stabilit de Childs și colaboratorii săi în 1958, pe baza studierii a 16 familii.

Analiza arborilor genealogici corelată cu determinarea enzimei a dus la concluzia că gena care controlează glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza este situată pe cromozomul X. Transmiterea este dominantă legată de sex, cu penetranță incompletă a genei, deoarece femei cu valori intermediare ale glutationului redus și fii sensibili la *prima-quin* au uneori părinți aparent normali. Studiul lui Siniscalco (1960) a pus în evidență prezența unei legături între locusul pentru glucozo-6-fosfat-dehidrogenază și locusul pentru cecitatea la culori.

În 1962, Boyer și Porter au demonstrat electroforetic existența la oamenii normali a două variante ale glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei, pe care le-au denumit A și B. Atît bărbații, cît și femeile prezintă în mod obișnuit numai una din variante. Deficitul enzimatic este asociat întotdeauna cu un tablou electroforetic de tip A. Implicațiile genetice ale acestei modificări biochimice sînt încă neclare. La unii bolnavi, Boyer și Porter (1962) au constatat și un deficit al 6-fosfogluconat-dehidrogenazei, care dehidrogenează 6-fosfogluconatul în 6 fosfo-3-ketogluconat, următoarea treaptă metabolică în degradarea glucozei, după ce glucozo-6-fosfat a fost transformată în 6-fosfogluconat, sub acțiunea

Scanned with OKEN Scanner

glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei. Semnificația acestei asocieri de deficite enzimatice este necunoscută.

Alte boli produse de deficitul de glucozo-6-fosfat-dehidrogenază. *Favismul,* boală cunoscută încă din antichitate, este o anemie hemolitică acută produsă de consumarea unei varietăți de fasole (*Vicia fava*). Boala are o incidență familială. Se bănuiește că deficitul de glucozo-6-fosfat-dehidrogenază, totdeauna prezent, ar fi asociat cu un mecanism extraeritrocitar imun sau metabolic (Tarlov și colab., 1962).

Icterul neonatal poate fi generat și de deficitul glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei (Weatherall, 1960). În 1961, Doxiadis și colaboratorii au subliniat că în Grecia există un mare număr de cazuri de icter neonatal, ale căror cauze nu pot fi explicate. Tot ei au arătat că unele dintre aceste cazuri se datoresc deficitului de glucozo-6-fosfat-dehidrogenază. Acești autori explică severitatea icterului, pe care o consideră un semn neobișnuit al bolii, prin asocierea tulburării enzimatice cu un alt factor necunoscut.

Anemia hemolitică nesferocitară congenitală are un caracter benign și o evoluție cronică. Ea a fost semnalată la copii din nordul Europei. Kirkman (1960) susține că în această boală glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza ar fi calitativ diferită de cea a indivizilor normali, cît și de cea din anemia hemolitică produsă de *prima-quin.*

Suxametoniul și pseudocolinesterazele. Proprietățile relaxante musculare ale suxametoniului, substanță în a cărei structură intră două grupări colinice, au fost descoperite de Bovet în 1951. Pe baza lor, medicamentul a fost introdus în anestezia clinică. S-au semnalat însă și cazuri atipice, cu apnee prelungită. Suxametoniul este distrus în organism de pseudocolinesterazele plasmatice, enzime sintetizate de ficat. Studiul pseudocolinesterazelor la bolnavii cu prag scăzut la suxametoniu a arătat o valoare medie mai mică decît jumătate din valoarea obținută la bolnavii cu reactivitate normală față de acest medicament.

Investigația pseudocolinesterazelor la rudele (părinți și copii) bolnavilor cu răspunsuri anormale la suxametoniu a arătat valori scăzute față de martori. În acest fel s-a demonstrat caracterul familial al tulburării enzimatice. Lehmann și colab. (1958)

Scanned with OKEN Scanner

evidenţiază trei genotipuri: homozigoţi normali, heterozigoţi şi homozigoţi bolnavi. Kalow şi Genest au utilizat o nouă metodă de studiu a acestor enzime, în vederea aprecierii procentului de inhibiţie al acţiunii pseudocolinesterazelor plasmatice asupra benzoilcolinei produse de anestezicul local dibucaina (cincocaina). Gradul de inhibiţie obţinut cu ajutorul acestei metode a fost numit număr dibucainic. Acest indice este independent de concentraţia enzimatică. El permite o mai bună diferenţiere între homozigoţii normali (valoare medie 80%) şi heterozigoţi (valori cuprinse între 52 şi 69%) decît aprecierea în unităţi a enzimelor.

Alte două pseudocolinesteraze, denumite tipică şi atipică (ultima are o reactivitate scăzută pentru toţi esterii colinici, inclusiv suxametoniul), au fost diferenţiate tot cu ajutorul metodelor biochimice. În mod obişnuit, homozigotul normal posedă pseudocolinesteraza tipică, în timp ce homozigotul bolnav are numai pseudocolinesterază atipică. La heterozigoţi se presupune existenţa unui amestec între cele două enzime sau prezenţa unor molecule hibride. Toate aceste date pledează pentru transmiterea recesivă autozomală a deficitului enzimatic în majoritatea cazurilor. Există şi o transmitere atipică, dominantă. De asemenea, s-au relatat cazuri atipice, cu absenţa totală a pseudocolinesterazelor plasmatice. În legătură cu aceste excepţii s-a luat în discuţie posibilitatea intervenţiei unei a treia alele în sinteza pseudocolinesterazelor.

Fenotiazinele şi antidepresivele. Relaţiile lor cu ereditatea bolilor psihice

Fenotiazinele dau tulburări extrapiramidale de tip parkinsonian în 5—60% din cazuri. Azima şi Sarwer-Foner (1962) apreciază că apariţia acestor complicaţii depinde fie de structura chimică a medicamentului, fie de doza administrată. Lambert şi Broussolle (1961) consideră că tulburările extrapiramidale nu însoţesc întotdeauna tratamentul fenotiazinic. În 1962, Denber şi Collard tratează cu haloperidol, timp de trei luni, două grupe de bolnavi psihotici din New York şi Liège. Deşi grupa

americană a primit doze mai mari de haloperidol decît grupa europeană, manifestările extrapiramidale au fost mai frecvente la grupa europeană (17 față de 12 cazuri de hipertonie musculară, 11 față de 6 cazuri de akinezie). În schimb, tremurătura statică a fost prezentă la 14 cazuri în grupa americană și numai la 7 cazuri în grupa europeană. Autorii emit ideea că diferențele de incidență ale tulburărilor extrapiramidale s-ar putea explica și prin factorii genetici diferiți ai celor două grupe de bolnavi.

Rolul eredității în producerea parkinsonismului medicamentos a fost studiat și de Myrianthopoulos și colaboratorii săi. Autorii au urmărit 728 de rude a 59 de bolnavi cu manifestări de parkinsonism apărute după medicația fenotiazinică și 677 de rude a 67 de subiecți rezistenți la efectele parkinsoniene ale acelorași medicamente. Printre rudele bolnavilor din prima categorie, la 13 s-a găsit boala Parkinson, în vreme ce între rudele bolnavilor din a doua categorie, numai 6 au prezentat această afecțiune. Aceste valori patologice sînt prea mici pentru analiza statistică a diferențelor semnalate.

Cercetările menționate sugerează necesitatea unei analize farmacogenetice mai amănunțită a semnelor extrapiramidale legate de medicația fenotiazinică.

Antidepresivele. În 1962, Pare și colab. au urmărit la bolnavii cu sindroame depresive în relații de rudenie de gradul I răspunsuri față de două tipuri de tratamente medicamentoase: 1) inhibitori ai monoaminooxidazelor, de tipul niamidului; 2) imipramine, de tipul tofranilului. S-au făcut 12 comparații intrafamiliale. Rezultatele terapeutice cu un anumit antidepresiv au fost similare la toți bolnavii între care existau relații de rudenie de gradul I. La 5 dintre aceștia s-a obținut o ameliorare medicamentoasă, în timp ce la 7 starea psihică nu a fost modificată. Autorii consideră că răspunsul față de inhibitorii monoaminooxidazei, pe de o parte, și medicamentele imipraminice, pe de altă parte, diferențiază două tipuri de depresiune deosebite genetic. Această opinie a fost combătută de Crisp (1963), care consideră că datele lui Pare sînt insuficiente pentru o asemenea concluzie. Totuși, acest mod de abordare a bolilor psihice s-ar putea dovedi fecund în viitor, deoarece se știe că în aceleași familii tipurile de psihoze sînt similare.

Scanned with OKEN Scanner

Aspecte farmacogenetice ale diabetului zaharat

Antagonismul insulinic. În 1955, Vallance-Owen și colaboratorii au studiat activitatea insulinei plasmatice la diferiți diabetici prin măsurarea efectului pe care îl produce plasma asupra fixării de glucoză pe un preparat de hemidiafragm de șobolan. Ei au relatat că bolnavii diabetici necetonurici care nu au primit tratament cu insulină au prezentat o concentrație plasmatică *à jeun* mai mare de insulină decît normalii, pe cînd la diabeticii care au necesitat insulină concentrația de insulină plasmatică a fost scăzută. Adăugarea in vitro de insulină la plasma bolnavilor s-a dovedit eficientă pentru fixarea glucozei musculare pe preparatul de hemidiafragm de șobolan numai la indivizii aparținînd primului grup. Aceste date au pus problema existenței unui antagonist insulinic plasmatic. Aceiași autori au descoperit inhibitorul insulinic și au stabilit că el este legat de albuminele plasmatice. Vallance-Owen și Lukens au întreprins un studiu experimental la pisică. Antagonistul insulinic a apărut numai la animalele pancreatectomizate și a dispărut cînd acestora li s-au extirpat glandele suprarenale sau hipofiza.

Pe baza acestor cercetări s-a născut ideea că diabetul apare ca rezultat al interacțiunii dintre antagonistul insulinic, care poate fi moștenit, și insuficiența celulelor pancreatice β, producătoare de insulină. În sprijinul acestei concepții merită menționat faptul că la subiecții prediabetici există valori mai mari ale antagonistului insulinic. Investigații familiale au arătat că antagonistul insulinic se transmite ereditar, probabil ca un caracter dominant.

Sulfamidele hipoglicemiante. În 1961, Butterfield și colaboratorii au propus o împărțire genetică a bolnavilor diabetici în două categorii, după cum răspund favorabil sau nu la medicația sulfamidică hipoglicemiantă per orală, de tipul tolbutamidului sau fenforminului. Cercetările autorilor respectivi necesită însă completări și în primul rînd efectuarea unor studii familiale cu aceste medicamente.

Investigațiile de farmacogenetică au dus la izolarea unor noi boli, ca, de exemplu, acatalazia, sau la îmbogățirea fiziopatologiei unor afecțiuni cu incidență crescută, ca, de exemplu, dia-

Scanned with OKEN Scanner

betul zaharat. Ele au permis precizarea patogeniei biochimice legate de hemoglobine patologice sau deficite enzimatice eritrocitare ale unor accidente medicamentoase, cum sînt anemiile hemolitice produse de sulfamide sau antimalarice. Deşi tînără ca disciplină, farmacogenetica a înregistrat succese deosebite, care au deschis drum cercetărilor genetice pentru numeroase boli.

BIBLIOGRAFIE

Aebi, H., J. P. Heiniger, R. Bütler, A. Hässio, Experientia, *17*, Basel, 1961, 466.

Allison, A. C., D. F. Clyde, „British Medical Journal", *1*, 1961, 1346.

Azima, H., G. J. Sarwer-Foner, „Revue Canadienne de Biologie", *20*, 1961, 603.

Bönicke, R., B. P. Lisboa, „Naturwissenschaften", *44*, 1957, 314.

Bourne, J. G., H. O. Collier, G. F. Somers, „Lancet", *1*, 1952, 1225.

Bovet, D., „Annals of New York Academy of Sciences", *54*, 1951, 407.

Boyer, S. H., I. H. Porter, R. G. Weilbacher, „Proceedings of National Academy of Sciences", *48*, 1962, 1868.

Butterfield, W. J. H., I. K. Fry, M. J. Whichelow, „Lancet", *1*, 1961, 753.

Crisp, A. H., „Lancet", *1*, 1963, 326.

Denber, H. C. B., J. Collard, „Acta Neurologica et Psyhiatrica Belgica", *62*, 1962, 577.

Dern, R. J., I. M. Weinstein, G. V. Le Roy, D. W. Talmage, A. S. Alving, „Journal of Laboratory and Clinical Medicine", *43*, 1954, 303.

Devadatta, S., P. R. J. Gangadharam, R. H. Andrews, W. Fox, C. V. Ramakrishnan, J. B. Selkon, I. Velu, „Bulletin of the World Health Organ", *23*, 1960, 587.

Doxiadis, S. A., P. Fessas, T. Valaes, „Lancet", *1*, 1961, 297.

Evans, D. A. P., „American Journal of Medicine", *34*, 1963, 639.

Fischer, R., F. Griffin, „Experientia", *17*, 1961, 36.

Scanned with OKEN Scanner

15

Imunogenetica

Generalități și definiții

Pătrunderea de macromolecule străine, antigenice, în mediul intern al unui organism determină declanșarea unui „răspuns" specific, al cărui aspect esențial îl reprezintă producerea de anticorpi.

Din punct de vedere chimic, anticorpii se încadrează în clasa mare a heteroproteinelor, printre γ-globuline. Structuralizarea lor sterică îi face capabili să se combine specific (mai mult sau mai puțin ireversibil) cu antigenul particular care le-a indus producerea.

Pînă în prezent se cunosc patru subpopulații de γ-globuline, care se deosebesc între ele din punct de vedere fizic, chimic și biologic. Diversele tipuri de imunoglobuline se definesc prin: greutatea moleculară (dedusă din constanta de sedimentare la ultracentrifugare), migrarea electroforetică, conținutul în hidrocarbonate, sistemul genetic sub controlul căruia se află (și care le conferă o anumită specificitate antigenică) și specificitatea de combinare cu diferiții determinanți antigenici.

1. γ_2-*globulinele* au greutatea moleculară 150 000—160 000 și constanta de sedimentare 7S; conținutul în glucide reprezintă 2—3%. Variabilitatea lor antigenică este definită în termenii factorilor Gm și Inv. Ele reprezintă 70—85% din cantitatea totală de imunoglobuline serice. Comitetul O.M.S. de referință pentru nomenclatura imunoglobulinelor a propus desemnarea lor prin simbolul IgG*.

2. γ_1A-*globulinele* (β_2A-globulinele) au greutatea moleculară 150 000—500 000 și constanta de sedimentare variabilă, între 7—15 S. Conținutul în glucide reprezintă 7—9,8%. Se definesc antigenic prin factorii Inv și reprezintă 5—25% din cantitatea totală de γ-*globuline*. Comitetul de nomenclatură O.M.S. a propus denumirea lor prin simbolul IgA.

---

* Ig = imunoglobuline.

Scanned with OKEN Scanner

3. γ_1M-*globulinele* (β_2M-globulinele) au greutatea moleculară 1 000 000 și constanta de sedimentare 19 S. Conținutul în glucide reprezintă 10,5%. Conțin numai factorul genetic Inv și reprezintă circa 5—10% din totalitatea globulinelor. Denumirea propusă de O.M.S. este IgM.

4. γ-*microglobulinele* au greutate moleculară mică și constanta de sedimentare 2—3,5 S. Nu conțin glucide. Se pare că acestea nu funcționează ca anticorpi.

Primele trei categorii: γ_2 (= Ig G), γ_1A (= Ig A) și γ_1M (= Ig M) sînt considerate imunoglobuline adevărate, *deci anticorpi* (Nissonoff, 1964).

Structura chimică intimă a anticorpilor este numai parțial elucidată. Cel mai bine investigate sînt globulinele Ig G (=γ_2= = 7 S), alcătuite din patru lanțuri polipeptidice identice între ele, două cîte două, de care se leagă o componentă polizaharidică.

Dintre aceste patru lanțuri, două sînt mai lungi, numite lanțuri A sau, mai recent, H* și două sînt mai scurte, numite lanțuri B sau, mai recent, L**.

În baza observațiilor lui Porter (1963), care a studiat structura Ig G la iepure, și ale lui Edelman (1960, 1964), care a studiat structura acestora la cobai și la om, s-a ajuns la concluzia că lanțul B(L) conține secvențele de aminoacizi care caracterizează sistemul Inv, pe cînd lanțul A(H) are la un capăt (corespunzător „articulației“ cu lanțul L) situsurile combinative caracteristice fiecărui anticorp, iar în porțiunea liberă, factorul genetic Gm și locul de fixare a complementului.

Se știe de multă vreme că formarea complexelor antigen-anticorp are ca rezultat, în majoritatea cazurilor, inactivarea antigenului respectiv. Din acest punct de vedere, capacitatea unui organism de a sintetiza anticorpi și de a „neutraliza“ astfel macromoleculele străine care, o dată pătrunse în mediul intern, ar fi capabile să interfereze funcționalitatea mecanismelor sale metabolice, constituie un avantaj selectiv.

---

* H este prescurtarea cuvîntului englezesc *heavy* (greu).
** L este prescurtarea cuvîntului englezesc *light* (ușor).

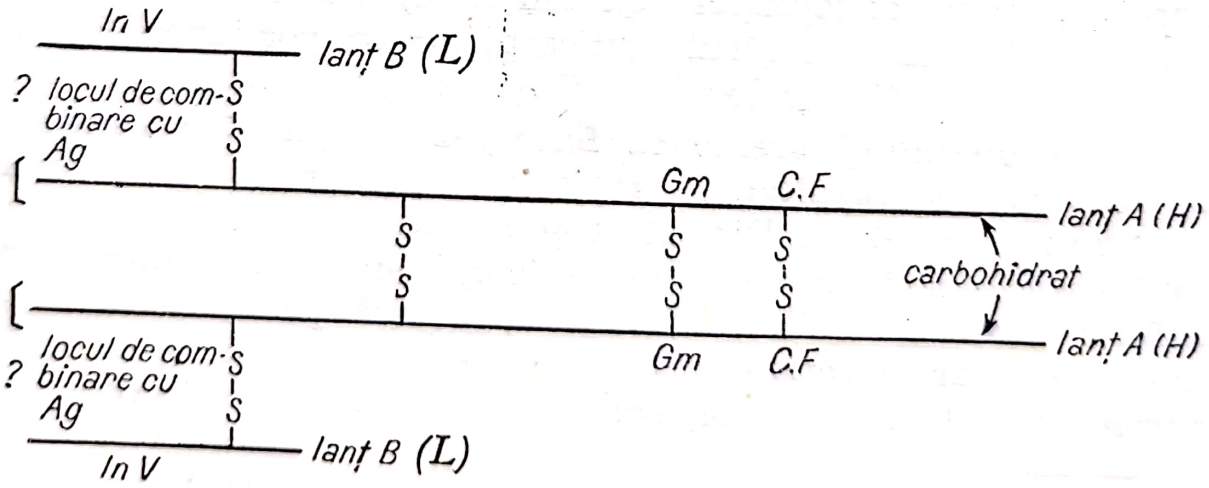
Scanned with OKEN Scanner

Modalitatea prin care structura particulară a unui antigen (Ag) „codifică" sinteza a două structuri proteice primare corespunzătoare (cele două feluri de lanțuri polipeptidice H și L) care, la rîndul lor, vor codifica structura terțiară capabilă să se combine cu antigenul, reprezintă o problemă mult discutată.

Se știe doar că suprafața anticorpilor (Ac) (referindu-ne la structura terțiară gata formată, adică la imunoglobulină) constituie un fel de „imagine în oglindă" sau „negativ" (din punctul de vedere al capacității de a stabili legături chimice) cu suprafața antigenului corespunzător, sau cu părți din ea.

Aceste legături chimice care pot fi stabilite între anticorpi și antigenele corespunzătoare par să fie de următoarele tipuri: 1) forțe de atracție slabe (de exemplu, forțe van der Waals, forțe de atracție coulombiană, forțe de atracție între grupări polare neionice, adică legături de hidrogen) și 2) forțe de atracție puternice (de exemplu, legături ionice și, poate, dar puțin probabil, legături covalente).

Punctele (atomii sau grupările atomice) de pe suprafața anticorpului capabile să stabilească legături chimice cu puncte corespunzătoare de pe suprafața moleculei de antigen se numesc *situs*-uri combinative. Nu s-a precizat încă dacă prin situs combinativ se înțelege *fiecare* punct de legătură în parte, sau o *configurație de puncte* capabilă să stabilească legături cu o anumită specificitate.



80. Structura chimică a anticorpilor (după Porter, modificată de Fleishman)

Moleculele teoretic capabile să se comporte ca antigene, adică să stimuleze mecanismele de răspuns imunologic ale unui macroorganism oarecare, sînt caracterizate prin trei proprietăți esențiale:

1. *Sînt informaționale*, adică au o configurație spațială specifică și constantă, astfel încît induc, fiecare în parte, formarea unuia și aceluiași tip de anticorpi, cu care se vor putea combina întotdeauna specific.

2. *Au o greutate moleculară suficient de mare* (sînt macromolecule) pentru a determina punerea în funcție a sistemului proteino-sintetizator corespunzător din macroorganism. Această proprietate este de natură ergodică și nu implică o specificitate informațională.

Moleculele care posedă doar prima proprietate se numesc *haptene*, iar cele care posedă numai cea de-a doua proprietate sînt „suporturi macromoleculare nespecifice", capabile să confere „proprietate antigenică" haptenelor cu care se unesc.

3. *Sînt apte de a fi degradate de către sistemele enzimatice* ale organismului care produce anticorpii specifici (Levin și colab. 1965).

În general însă, *nu toate moleculele* care posedă cele trei proprietăți de mai sus sînt și realmente antigenice pentru orice organism.

Fiecare organism este capabil să sintetizeze anticorpi *numai împotriva acelor molecule „potențial antigenice"* a căror configurație structurală diferă semnificativ de cea a propriilor sale componente (numite *self*), și pe care le poate recunoaște ca străine *(non-self)*, deoarece le poate metaboliza. Macromoleculele „potențial antigenice", identice cu compușii *self*-ului, sau chiar întîmplător similare cu unii dintre aceștia, nu pot fi realmente antigenice pentru organismul respectiv (fenomenul de „recunoaștere" a selfului). Cu alte cuvinte, pentru ca o anumită substanță să fie *realmente antigenică* într-un caz dat, ea trebuie să fie *străină, recognoscibilă ca atare* și *degradabilă* de către organismul-gazdă în cauză. Aceste cerințe suplimentare nu sînt în fond altceva decît restricții cu privire la „latura informațională" a macromoleculei incriminate, și anume referitoare la relația deterministă în care aceasta se află cu con-

Scanned with OKEN Scanner

figurația metabolică, deci genetică, specifică unei gazde particulare.

În concluzie, *antigenicitatea reală a unei aceleiași macromolecule potențial antigenice nu este întotdeauna aceeași, ci variază în funcție de gazdă.*

Menționăm în această ordine de idei că și imunoglobulinele se pot comporta ca antigene atunci cînd sînt introduse unui alt animal decît cel care le-a produs, determinînd un răspuns imunologic din partea gazdei (producere de anticorpi antiglobulinici). Aceasta arată că anticorpii sintetizați împotriva aceluiași antigen de către două gazde semnificativ diferite din punct de vedere genetic diferă între ei prin anumite detalii de structură, localizate altundeva decît în *situs*-urile combinative. Este vorba de deosebiri existente în compoziția lanțurilor polipeptidice A și B, deosebiri localizate în segmente ce nu participă la „structura reactivă" a anticorpilor, sau de structuri reactive diferite din punctul de vedere al compoziției, dar echivalente din punct de vedere funcțional.

Aceste deosebiri se datoresc existenței în lanțurile polipeptidice ale γ-globulinelor a unor porțiuni cu secvențe în aminoacizi caracteristice, ce conferă o anumită antigenicitate moleculei și care reprezintă expresia fenotipică a unui anumit genotip. Din punctul de vedere al antigenicității, sînt cunoscute pînă în prezent la γ-globulinele umane două sisteme alotipice: Gm și Inv.

Sistemul Gm a fost descoperit de Grubb și colaboratorii în 1956, cînd au constatat că unele seruri inhibau reacția de aglutinare a hematiilor O RH-pozitive (învelite cu anticorpi incompleți anti-Rh) de către serurile unor bolnavi cu artrită reumatoidă. Cercetînd un număr mare de indivizi, acești autori au stabilit că 60% dintre ei erau Gm (a+) inhibînd reacția, pe cînd 40% erau Gm (a—) și nu inhibau această reacție. Studierea pedigriurilor le-a permis să arate că aceste diferențe în structura gamaglobulinelor se transmit ereditar, sistemul fiind sub dependența a două alele ale unui locus autozomal, dintre care una dominantă (Gm a) și alta recesivă (Gm). Expresia fenotipică Gm (a+) poate fi dată deci de două genotipuri parentale: Gm^a/Gm^a sau Gm^a/Gm, pe cînd Gm (a—), numai de Gm/Gm. Ulterior s-a mai descoperit o altă varietate globuli-

nică — alotipul Gm (x+) — controlată de alela Gm x dominantă și alotipul Gm (x—), determinat de alela Gm y recesivă. Aceste două alele aparţin unui al doilea locus linkat cu primul, deci situat pe același autozom (Ropartz, 1964).

Studiile serologice au permis clasificarea fenotipurilor sistemului Gm, care caracterizează diferitele varietăți gamaglobulinice, astfel:

fenotip	*genotip*
Gm (a +, b +, x +)	← Gm a, Gm x/Gm b, Gm x
Gm (a +, b —, x +)	← Gm a, Gm x/Gm a, Gm x sau Gm a, Gm x/Gm, Gm y
Gm (a —, b +, x +)	← Gm b, Gm x/Gm b, Gm x sau Gm b, Gm x/Gm, Gm y
Gm (a +, b +, x —)	← Gm a, Gm y/Gm b, Gm y
Gm (a +, b —, x —)	← Gm a, Gm y/Gm a, Gm y sau Gm a, Gm y/Gm, Gm y
Gm (a —, b +, x —)	← Gm b, Gm y/Gm b, Gm y sau Gm b, Gm y/Gm, Gm y
Gm (a —, b —, x +)	← Gm, Gm x/Gm, Gm x sau Gm, Gm x/Gm, Gm y
Gm (a —, b —, x —)	← Gm, Gm y/Gm, Gmy.

În rezumat, acest sistem se află sub controlul a două locusuri: unul cu două alele (Gm x, dominantă și Gm y, recesivă) și altul cu trei alele (Gm^a și Gm^b codominante, și Gm recesivă) localizate pe același cromozom autozomal și în poziții foarte apropiate. În 1961, Roparz mai descrie încă un sistem globulinic, fracțiunile Inv, care se pot prezenta sub trei fenotipuri, controlate de alelele Inv^a și Inv^b, codominante.

fenotip	*genotip*
Inv (a + b —)	Inv^a/Inv^a
Inv(a + b +)	Inv^a/Inv^b
Inv(a — b +)	Inv^b/Inv^b

Așadar, fiecare organism „își recunoaște anticorpii proprii“ și reacționează împotriva anticorpilor străini, la fel ca și împotriva oricăror alte proteine *non-self*, fie că provin de la o altă specie, fie de la un alt „alotip“ în interiorul aceleiași

Scanned with OKEN Scanner

specii. Alotipia imunoglobulinelor și determinismul său genetic sînt din ce în ce mai intens studiate în ultimii ani și numărul de alotipuri descrise în literatură crește mereu.

Modul în care fiecare organism-gazdă este capabil să deosebească *self*-ul de *non-self* constituie de multă vreme subiectul unor dispute aprinse, deși teoria „selecției clonale" elaborată de Burnet în 1958 reprezintă un mare pas înainte pe calea descifrării acestui mecanism.

Faptul că proprietățile de *self*, *non-self*, antigenicitate și anticorpogeneză sînt constante pentru fiecare individ în parte (căruia îi sînt specifice) pledează în favoarea intervenției unui determinism genetic pentru realizarea fiecăruia dintre aceste caracteristici în parte și, implicit, pentru guvernarea genetică a procesului imunologic în general.

Determinismul genetic al biosintezei anticorpilor. Locul și modul în care sînt produși anticorpii.

Sediul celular al sintezei anticorpilor. Celulele efectoare în procesul de sinteză a anticorpilor sînt limfocitul și plasmocitul din linia limfoplasmocitară.

Limfocitul a fost considerat ca celulă efectoare în sinteza anticorpilor încă de către Rich, în 1939. Datele care pledează în favoarea acestei concepții se bazează pe o serie de observații, ca:

1. Titrul de anticorpi crește în limfa eferentă a ganglionilor limfatici stimulați de antigen.
2. Transplantarea la animale iradiate a unor limfocite neimune, puse în contact în vitro cu antigene, a provocat răspuns de anticorpi (Harris și colab., 1958).
3. Eliberarea anticorpilor prin acțiunea unei substanțe limfolitice și inhibarea producției lor în urma acestei acțiuni.
4. Demonstrarea transferabilității alergiei tuberculinice cît și a reacției de respingere a grefei prin limfocit.

Totuși, o serie de alte date aduceau contraargumente aproape tot atît de convingătoare.

Demonstrarea definitivă a sintezei imunoglobulinelor de către limfocite a fost făcută de Ricke și colab. (1964), care, utilizînd metionină și leucină marcată cu tritiu, obțin sinteza de

Scanned with OKEN Scanner

proteine nucleare și citoplasmatice după o oră în limfocitele mici și după șapte-opt ore în cele medii și mari. Utilizînd însă fitohemaglutinina — substanță care are proprietatea de a stimula ciclul sintezei ADN-ului — Bach și colaboratorii (1963) au reușit să demonstreze o sinteză de proteine în limfocit de 10 μg/24 h, ceea ce echivala cu 1% din greutatea lor. Totodată, ei arată că aceste proteine migrează electroforetic cu γ_2-, γ_1A- și α_2-globulinele și sedimentează cu 7 S globulinele.

Principala celulă efectoare a sintezei anticorpilor este reprezentată de plasmocit. Datele care susțin corectitudinea acestui punct de vedere au o consistență experimentală dintre cele mai solide. Astfel:

1. După stimularea antigenică numărul de plasmocite crește în organele hemolimfoidale.

2. Datele morfologice arată că plasmocitele au o organizare structurală caracteristică celulelor secretorii de proteine: citoplasma este intens bazofilă și pironinofilă, iar ergastoplasma este bogată, avînd un echivalent în reticulul endoplasmic de tip R foarte dezvoltat. Din acest punct de vedere, plasmocitele ar putea fi comparate cu glandele unicelulare.

3. Între numărul plasmocitelor și nivelul γ-globulinelor există o corelație strînsă. Astfel, în agammaglobulinemiile congenitale se constată o scădere accentuată a plasmocitelor. Hipergammaglobulinemiile sînt însoțite de o plasmocitoză marcată.

4. Dovezi directe asupra prezenței sintezei de anticorpi în plasmocite au la bază trei tipuri de investigații: a) cu ajutorul metodelor de fluorescență, utilizîndu-se fie metoda directă cu ser antigammaglobulinic, fie metoda sandwich (Coons, 1958); b) cu ajutorul metodei imunochimice de evidențiere a anticorpilor la microscopul electronic, marcați cu feritină (Rifkind și colab., 1961, de Petris și colab., 1963); c) prin studiile pe o singură celulă izolată cu ajutorul metodei micropicăturii (Nossal și Lederberger, 1958).

Majoritatea cercetărilor par să fie de acord că plasmocitele provin din limfocitele mari, celule cu nucleul de 10μ, care au o rețea fină de cromatină, 1—2 nucleoli și citoplasma slab bazofilă. Aceste celule au mai fost numite de diferiți autori fie celule reticulare activate, fie hemocitoblaști etc. Din aceste

Scanned with OKEN Scanner

celule, prin 7—8 generații a căror viață medie este de 12 ore, iau naștere plasmocitele.

Dintre celulele liniei plasmocitare, se pare că sinteza anticorpilor are loc în plasmocitul imatur (rata sa de sinteză a ARN-ului este foarte mare). Celula matură, a cărei sinteză de ARN este comparativ mult mai mică, elimină prin merocrinie anticorpii circulanți (Bessis, 1961).

O problemă de o deosebită importanță este găsirea unei explicații pentru faptul că celulele „efectoare", biciuite o dată în sensul proliferării de către un antigen, vor răspunde mai „amplu" la reintroducerea „secundară" a aceluiași antigen. Se presupun trei posibilități: fie persistența antigenului în celulele formatoare de anticorpi; fie prezența unor unități autoreplicabile în aceste celule, fie, în sfîrșit, activarea unui potențial existent.

Datele experimentale arată posibilitatea unui răspuns la antigen după 800 de generații de celule formatoare de anticorpi, ceea ce nu poate fi conceput dacă se ia în considerație persistența în citoplasmă a antigenului, care fie că ar fi degradat (se cunosc doar cîteva excepții în acest sens, cum ar fi polizaharidul pneumococic), fie că s-ar dilua prin mitozele respective. Din această cauză persistența memoriei imunologice pare a fi mai repede legată de prezența unor unități auto-replicabile, care, oriunde le-am localiza — în celulă sau în organitele sale (microzomi, reticul endoplasmic etc.) — au un corespondent în ADN-ul ce constituie genomul celular.

Faptul că după administrarea antigenului, într-un răspuns secundar, 95% din limfocitele mari sînt marcate cu timidină tritiată, (deci la acest nivel al liniei limfoplasmocitare a acționat antigenul), îi face pe Nossal și Mäkelä (1962) să considere că acest tip de celule este purtătorul memoriei imunologice.

Cum sînt induse să formeze anticorpi celulele care poartă memoria imunologică și cum este păstrată această memorie?

Celulele efectoare în stare de repaus, cît și cele ale animalelor gnotobiotice produc cantități extrem de mici de anticorpi decelabili prin tehnicile uzuale.

Aceste celule au două posibilități de dezvoltare: a) să nu vină în contact cu antigenul și atunci ele se divid la rata lor obiș-

Scanned with OKEN Scanner

nuită de 24 de ore. În acest caz unele celule se pierd prin diferențiere sau moarte, iar altele transmit „memoria" imunologică prin autoreplicarea materialului genetic în care este conținută informația de producere a anticorpului respectiv; b) să vină în contact cu antigenul, moment în care se produce o stimulare a proliferării și o dată cu aceasta crește și rata de sinteză a anticorpilor. În acest caz, un număr mare de celule se vor diferenția pînă la plasmocit și numai o mică parte va rămîne în starea de limfocit mare, păstrînd capacitatea de transmitere a memoriei. În orice caz, rezultă, așa cum reiese din schema construită de Nossal, că memoria imunologică este legată de genomul celular.

Sediul subcelular al sintezei anticorpilor. Ciclul ADN-ului este o constantă ce caracterizează durata vieții fiecărei celule vii, fiind constituit dintr-o perioadă reprezentată de replicarea semiconservativă a ADN-ului, în care conținutul acestuia per nucleu se dublează (faza S), o perioadă de repaus, ce succede această sinteză (g_2) și precede mitoza, și o perioadă de repaus (g_1) care succede mitoza, precedînd o nouă sinteză.

Ceea ce caracterizează celulele producătoare de anticorpi este ciclul rapid al ADN-ului, viața medie a plasmocitelor fiind de 24—32 de ore. De altfel, limfocitele — atîta timp cît au un ciclu ADN încetinit, ca la limfocitele mici — nici nu sintetizează anticorpi. Numai activarea ciclului ADN prin fitohemaglutinină și unii antigeni ce funcționează ca agenți mitogeni (Michlovsky, 1964, Hashem, 1964) duc la stimularea capacității limfocitelor de a sintetiza direct anticorpi.

Aceasta se datorește faptului că în cursul anticorpogenezei există posibilitatea ca procesele de sinteză de ADN și de anticorpi să coexiste în elementele efectoare. Acest fapt a fost dovedit atît prin extrapolarea curbelor de mitoză și de producere de anticorpi într-o populație de celule efectoare dată (Banney, 1962), cît și prin combinarea (Coons și colab., 1958—1961) tehnicilor de citoautoradiografie cu timidină tritiată pentru demonstrarea sintezei de ADN, cu cele de imunofluorescență pentru evidențierea producției de anticorpi.

Sinteza proteinelor-anticorpi este un proces cu un determinism genetic identic cu al oricărui proces de sinteză a proteinelor.

Scanned with OKEN Scanner

Întocmai ca și pentru celelalte celule secretorii de proteine, în genomul acestor celule există o parte din ADN care funcționează obligatoriu pentru realizarea planului de structură a celulei respective, și o parte activă, pentru sinteza anticorpilor. De aci reiese că în celulele efectoare trebuie să existe o oarecare restricție fenotipică, în cadrul unor restricții genotipice, în formarea anticorpilor. Într-adevăr, cercetările lui Nossal-Mäkelä au arătat că o celulă efectoare poate forma un singur tip de anticorpi, fapt demonstrat prin teste serologice și de imunofluorescență pe celule izolate prin metoda micropicăturilor. În experiențele citate, Nossal a găsit că 1,8% din celule pot forma anticorpi față de două antigene, cifră destul de mică față de datele lui Attardi (1959), care a găsit de zece ori mai multe celule ce pot forma doi anticorpi față de doi antigeni bacteriofagici deosebiți. Aceste experiențe arată neîndoielnic o restricție fenotipică, dar nu totală, cum e cea din celulele secretorii osoase, de exemplu, în care osteoblastul produce doar colagenul cu periodicitatea 640 Å, necesar osificării.

Restricția genotipică este demonstrată de experiențele lui Simonsen care, transferînd celule imune la animale receptoare, a observat că acestea își mențin capacitatea de a forma anticorpi chiar după cîteva transferări, numai pentru antigenele la care au fost expuse inițial.

Prezența unei restricții genotipice și a uneia fenotipice destul de restrînsă sugerează ideea că fiecare celulă efectoare posedă un locus pe ADN, care conține întreaga propoziție codificată din mesajul genetic ce controlează sinteza moleculei de imunoglobulină.

Prezența unor celule ce sintetizează mai mult decît un tip de anticorpi ar putea fi explicată fie de o eroare de tehnică, cum ar fi înglobarea în timpul microdisecției a unui fragment de citoplasmă din alte celule formatoare de anticorpi, fie prin transmiterea ARN-m de la o celulă la alta prin punțile intercitoplasmatice dintre imunocite, observate recent de Aronson (1963) și Schoenberg (1964), fie, în sfîrșit, că celulele dublu active sînt heterozigote pentru același locus, astfel încît pot sintetiza doi anticorpi.

Cu toate că ARN-m a fost evidențiat în imunocitele de ma-

Scanned with OKEN Scanner

mifere și în leucocite, nu există date asupra izolării unui asemenea ARN care să participe la sinteza anticorpilor.

Existența în imunocite a unui ARN care se sintetizează în nucleu pe ADN și care ulterior se va găsi în citoplasmă (fiind deci un ARN-m ce conține transcripția mesajului genetic pentru sinteza γ-globulinelor) este demonstrată de cîteva experiențe. Astfel, în 1961, Schooley, studiind plasmocitele marcate simultan cu timidină, citidină și leucină tritiată, constată că citidina H^3 apare după 30 min. repartizată difuz în nucleu, după 60 min. se acumulează în jurul nucleolilor, iar după 5 ore se găsește numai în citoplasmă. Această imagine morfologică obținută prin histoautoradiografie se suprapune secvențelor metabolice cunoscute ale sintezei și circulației ARN-m, și anume replicarea pe un fragment din ADN, circulația în sucul nuclear și eventuala depozitare în nucleol, care constituie o stație de tranzit al ARN-ului sintetizat în nucleu și care trece apoi în citoplasmă prin porii membranei nucleare, acumulîndu-se la nivelul ribozomilor, unde se consumă.

În 1961, Cohen, incubînd celule neimune cu ARN extras din splenocitele provenite de la animale imune, obține formarea de anticorpi, după un contact de 30 min. Această experiență, ca și cele ale lui Mannick privind obținerea imunității de transplantare prin incubarea de ARN limfocitar, sugerează prezența ARN-m și intervenția lui în procesul de sinteză a anticorpilor la nivelul ribozomilor.

Formarea anticorpilor la nivelul ribozomilor, a fost demonstrată de lucrările lui Askonas (1965) și ale lui Feldman. Studiile electronografice întreprinse de Rifkind și colab., (1961) și de Petris și colab. (1963) reușesc să pună în evidență, prin metoda anticorpilor conjugați cu feritină, prezența acestora în reticulul endoplasmic.

Date deosebit de importante au fost aduse de Stenzel (1964), care a studiat unele particularități ale unităților morfobiochimice de sinteză a proteinelor — ergozomii — din celulele formatoare de anticorpi.

La nivelul celulelor formatoare de anticorpi, ergozomii sînt mono- sau dimeri, formați din ribozomi ce au 80—120 S. Această particularitate are implicații serioase asupra înțelegerii procesului de sinteză a moleculei de globulină, deoarece ARN-m

Scanned with OKEN Scanner

care ar putea să se muleze pe un dimer este scurt, putînd să conțină mesajul genetic pentru 60—80 de aminoacizi. Aceasta ar implica sinteza separată a unor subunități (poate lanțurile H, L etc.) ale moleculei de proteină-anticorp. Din cercetările lui Manner și ale colab. (1965) reiese că în celulele formatoare de anticorpi ribozomii sînt solidarizați în polizomi nu numai de către ARN-m, ci și de către lanțuri polipeptidice.

Reglarea genetică a specificității răspunsului anticorpo-formator

Explicarea mecanismelor complexe ale formării anticorpilor a pasionat pe cercetători încă din momentul cînd Jenner și apoi Pasteur au pus bazele științifice ale imunologiei moderne.

Teoriile asupra formării anticorpilor au fost grupate, pe baza logică a mecanismelor implicate în acest fenomen, în două categorii: teorii instructive și teorii selective.

Teoriile instructive consideră că specificitatea anticorpilor se datorează acțiunii directe a antigenului, care determină printr-un mecanism oarecare formarea unei structuri spațiale gamma-globulinice complementare. Formulări de acest tip întîlnim la Breinel, Haurowitz (1930), Alexander (1931), Mudd (1932). Ei afirmă că specificitatea anticorpilor este dată de secvența aminoacizilor din structura lanțurilor de polipeptide, dar că aceasta este dobîndită după contactul cu antigenul pe ai cărui determinanți anticorpul își mulează o structură complementară. Recent, Haurowitz (1965) consideră că acest proces are loc nu după terminarea sintezei moleculei de imunoglobulină, ci în cursul acestui proces, la nivelul polizomilor, cînd antigenul legat de ARN-t poate modifica unele secvențe de aminoacizi complementari față de determinanții săi antigenici.

Pauling și Karush afirmă că efectul „instructiv" al antigenului nu are loc la nivelul secvenței aminoacidice, ci în stabilirea structurii terțiare a moleculei de imunoglobuline, determinînd fie o înfășurare secundară sau terțiară specifică (Pauling), fie o anumită ordine a legăturilor disulfidice (Karush), care se stabilesc în cursul formării structurii terțiare a moleculei de proteină.

Scanned with OKEN Scanner

Cu toate că aceste teorii explică satisfăcător o serie de fenomene imunologice (de exemplu, specificitatea reacției antigen-anticorp), ele contravin datelor binecunoscute referitoare la mecanismul sintezei proteinelor, cît și unor observații în care s-au stabilit diferențe structurale între două tipuri de anticorpi (anti-ARS și anti-R_4C) la un același iepure (Koshland și Engelberger, 1963). De asemenea, aceste teorii nu pot explica procesul de recunoaștere a *self*-ului și implicațiile sale directe — toleranța și boala de autoagresiune.

O variantă a acestor teorii instructive directe este teoria „matricei indirecte", care consideră că antigenul modifică sistemul enzimatic ce produce anticorpii (Burnet și Fenner) sau ADN-ul celulelor formatoare (Owen), astfel încît acestea produc imunoglobuline specifice.

Prima dintre toriile selective a fost formulată de către Ehrlich la începutul acestui secol și astăzi, după aproximativ 50 de ani, sîmburele de adevăr pe care îl conținea este din nou folosit în lumina datelor experimentale și teoretice acumulate între timp.

Astfel, în teoria lanțurilor laterale, Ehrlich considera că pe suprafața celulelor se găsesc „receptori" (= lanțuri laterale) care se potrivesc cu unii antigeni ca și cheia într-o broască. Lanțurile laterale care s-au combinat (prin potrivire) cu antigenul pătruns se rup după unire și, imediat, celula respectivă produce în mod corespunzător altele noi. Teoria selecției naturale formulată de Jerne după 55 de ani este asemănătoare celei a lui Ehrlich. Jerne consideră că unele molecule de imunoglobuline posedă o afinitate spontană pentru un antigen. Acestea au fost numite anticorpi „naturali". În felul acesta, celulele formatoare de anticorpi ale căror produși gammaglobulinici corespundeau steric cu un antigen nou intrat erau stimulate, ca urmare a unui contact adecvat, și sintetizau în număr mare produșii respectivi. Doi ani mai tîrziu, Talmage (1957), dezvoltînd teoria selecției celulare, consideră că antigenul stimulează în mod selectiv proliferarea și funcția de sinteză a celulelor care formează anticorpi complementari acestuia. Aceste idei l-au făcut pe Burnet să renunțe la vechea lui teorie a matricei indirecte și să formuleze prima teorie darvinistă a

Scanned with OKEN Scanner

procesului de formare a anticorpilor, aceea a selecției clonale, teorie care reprezintă o sinteză remarcabilă a cunoștințelor de genetică moleculară, imunologie, biologie generală.

Burnet a emis ideea că toate fenomenele imunologice sînt rezultatul acțiunii de selecție a calităților care au apărut în cursul filogeniei ca urmare a selecționării mutanților favorabili.

Teoria selecției clonale nu încearcă să explice eventualitatea determinării directe a configurației de specificitate a celulelor anticorpo-formatoare prin transfer de informație antigenică de la macromoleculele străine. Pentru Burnet, transferul informației antigenice, indiferent de modalitatea prin care se face, nu reprezintă în fond altceva decît stimularea prin potrivire sterică a unui *pattern* complementar gata format, în cazurile și acolo unde există. Concepția lui Burnet pleacă de la premisa opusă: fiecare celulă este în general capabilă să sintetizeze numai un singur fel de anticorpi, corespunzători tiparului genetic specific pe care îl posedă acea celulă.

Ținînd seama de faptul că numărul configurațiilor antigenice teoretic posibile este relativ restrîns ($\approx$ 50 000), s-a considerat că numărul de celule „cap de clonă" care ar putea să acopere toți determinanții antigenici se dezvoltă în cursul diferențierii embriologice printr-un proces care are la bază hipermutabilitatea unei regiuni relevante din genom (Lederberg, 1962).

Mutația poate să apară în urma modificării secvenței nucleotidice (mutație punctiformă) sau printr-o leziune, deleție, inversie sau chiar *crossing-over* mitotic compatibil cu funcționarea celulară. Mutațiile somatice prin care se presupune că iau naștere capetele de clonă sînt mult mai frecvente decît cele germinative, dar, în general, ele au aceeași calitate și stabilitate. Acest tip de mutație nu a putut fi detectat pînă acum nici măcar cu ajutorul celor mai fine mijloace de investigație, decît după dezvoltarea unei clone de descendenți cuprinzînd cel puțin 10^4 membri (Burnet, 1965).

Aceasta poate apărea în două cazuri, fie atunci cînd mutația a avut loc într-o celulă în cursul dezvoltării embrionare timpurii, permițînd dezvoltarea în cursul ontogeniei a unui număr semnificativ de descendenți, fie cînd mutația respectivă constituie un avantaj selectiv din punctul de vedere al capacității de proliferare pentru celula în care s-a produs.

Scanned with OKEN Scanner

Stimulul antigenic constituie tocmai factorul selectiv al celulei care a suferit o mutaţie corespunzătoare unei configuraţii globulinice specifice, cît şi factorul stimulativ mitotic, care poate produce o proliferare intensă, astfel încît clona să devină manifestă.

Teoria selecţiei clonale admite de asemenea că o clonă celulară stimulată are o comportare diferenţiată, în funcţie de momentul ontogenetic al stimulării. Astfel, stimularea în cursul vieţii embrionare duce la distrugerea sau, mai corect, la eliminarea funcţională a capului de clonă respectiv. Stimularea produsă după o anumită maturizare ontogenetică a macroorganismului din care face parte (în general după realizarea extrauterinizării sau ecloziunii) are ca rezultat proliferarea clonei respective şi sinteza de anticorpi.

Dacă acest mecanism ar fi adevărat, el ar putea explica o mulţime de fenomene cunoscute, dintre care menţionăm recunoaşterea *self*-ului. Primele celule „cap de clonă" stimulate precoce în viaţa intrauterină sînt cele corespunzătoare moleculelor „potenţial antigenice" aparţinînd *self*-ului, şi anume ale celor circulante*. Dat fiind momentul stimulării, ele sînt treptat distruse sau inhibate, astfel încît în momentul extrauterinizării sau al ecloziunii, un organism *nu mai este capabil* să sintetizeze imunoglobine faţă de macromoleculele proprii, nemaiposedînd capetele de clonă respective**.

Astfel, după ce se va maturiza imunologic, organismul nu va mai putea reacţiona în condiţii normale decît faţă de moleculele străine (*non-self*), pe care le va discrimina, în mod implicit şi indirect, de self.

Dovezi experimentale în favoarea teoriei selecţiei clonale au fost aduse de cercetările lui Nossal şi Lederberg (1958) şi apoi

---

* Componentele „necirculante" sau „izolate", ca tireoglobulina sau cristalinul propriu, neputînd veni în contact cu celulele cap de clonă corespunzătoare în cursul vieţii intrauterine, nu le distrug şi deci nu sînt recunoscute ca *self*. Intrarea lor în circulaţie la un moment dat (în mod accidental) duce la producerea de autoanticorpi corespunzători.

** În cursul primelor faze ale ontogenezei a avut loc un proces de „selecţie a clonelor", după care au rămas capabile să funcţioneze numai clonele îndreptate împotriva moleculelor *non-self*. De aci şi numele de „teorii selective" atribuit interpretărilor de acest fel.

Scanned with OKEN Scanner

de Coons și colab. (1958—1964), care au arătat că fiecare plasmocit este capabil să formeze cîte un singur tip de anticorpi; în sfîrșit, de Koshland (1963), care a demonstrat existența unor deosebiri între diferiții anticorpi de la iepure, cît și de utilizarea tehnicii lui Jerne a studiului anticorpilor în plaje.

Datele obținute prin această tehnică au arătat că la șoarecii neimunizați cu hematii de oaie există o foarte mică subpopulație de celule splenice capabile să producă hemoliza. La șoarecii imunizați cu hematii de oaie și de iepure, cele două populații celulare ce produc anticorpi sînt distincte. Imunizarea numai cu hematii de oaie produce o creștere rapidă a hemolizei acestora, dar nu lizează hematiile de iepure.

Reglarea genetică a dinamicii răspunsului imun. Declanșarea și oprirea sintezei anticorpilor

În legătură cu acest aspect al procesului imunologic se cunosc destul de puține lucruri, deși s-au făcut numeroase cercetări experimentale și s-au încercat multe scheme teoretice.

Printre diferitele modele explicative propuse, mai interesante sînt cele prezentate de către Finch, Parker și Béarn, ambele bazate pe conceptul de operon descris de Jacob și Monod.

În 1963, Finch presupune existența în celulele formatoare de anticorpi a unui operon alcătuit dintr-o genă operatoare și două gene structurale *a* și *b*: una dintre acestea guvernează sinteza unei proteine represoare, iar cealaltă, sinteza unei proteine alosterice de asociație.

În mod normal, operonul este reprimat de către productul propriei sale gene structurale *a*, care funcționează ca proteină represoare, și astfel sinteza de proteine (anticorpi) este blocată. Dacă la un moment dat o moleculă nou intrată în celulă (un antigen) este capabilă să se combine cu *situs*-urile corespunzătoare de pe lanțul polipeptidic A, modificîndu-i acestuia conformația astfel încît să nu mai poată reprima gena operatoare, operonul este dereprimat, iar cele două gene structurale, acum active, își vor sintetiza fiecare productul specific (A și B). Lanțurile A și B nou sintetizate au tendința să se asocieze în perechi (2A + 2B), rezultînd astfel molecule de anticorpi 7 S. Dispariția

antigenelor care blocau proteina represoare A duce la reapariția de molecule A libere, care vor reprima din nou gena operatoare, deci operonul întreg. Sinteza de imunoglobuline imune rămîne astfel blocată pînă la reintroducerea unei alte molecule antigenice, care nemaigăsind anticorpi liberi cu care să se combine va „consuma" din nou lanțuri A, dereprimînd iar operonul.

Modelul Parker-Béarn admite existența a doi operoni. Primul conține o singură genă reglatoare (RG_1), al cărui product funcționează ca represor față de gena operatoare O_2. Al doilea operon conține două gene, una structurală, care produce lanțurile A și B ale anticorpilor și are rolul de corepresor față de propria genă operatoare O_2 alături de productul genei (RG_1). Productul celei de-a doua RG_2 reprimă gena operator O_1. În sfîrșit, unele lucrări recente, aparținînd lui Fuddenberg, soților Herzenberg și lui Burtin și Grabar, sugerează un model mult mai integrativ, capabil să explice majoritatea datelor cunoscute din fiziologie, cît și unele cazuri patologice de hipo- și agammaglobulinemie. Analiza acestor cazuri patologice a constituit punctul de plecare al studiilor efectuate de către autorii sus-amintiți.

Acest model admite că cele trei tipuri de imunoglobuline mai binecunoscute ar avea următoarele formule structurale:

$$\text{Ig M} = L_2H_2^M;$$

$$\text{Ig G} = L_2H_2^G;$$

$$\text{Ig A} = L_2H_2^A;$$

în care L reprezintă lanțurile ușoare (aceleași pentru toate trei tipurile de molecule), iar H reprezintă lanțurile grele, a căror compoziție diferă de la un tip la altul.

Lanțurile L ar fi sintetizate sub controlul unui locus aflat pe cromozomul X, iar lanțurile H s-ar afla sub controlul a trei locusuri autozomale: unul pentru H^M, și celelalte două pentru H^A și H^G, strîns linkate între ele, dar așezate la o anumită distanță de primul, probabil însă că pe același autozom.

Între aceste locusuri autozomale ar exista o anumită interdependență de reglaj în cursul răspunsului imun. Astfel, în cursul răspunsului „primar" ar fi activ numai locusul H^M, al cărui pro-

Scanned with OKEN Scanner

duct (dimerii H_2^M) s-ar asocia cu dimerii L_2 proveniți de la cromozomul X, formînd Ig M, adică anticorpi 19 S.

După un timp, celelalte două locusuri autozomale ar intra în acțiune și productele lor ar avea un efect inhibitor asupra genei H^M (probabil printr-un mecanism de represie).

În acest mod, dimerii nou sintetizați H_2^G și H_2^A se vor combina de aci înainte cu dimerii L_2 (permanent sintetizați), formînd moleculele de Ig G și Ig A, caracteristice răspunsului imun secundar.

Acest tip de organizare genetică ar justifica atît faptele actualmente cunoscute referitoare la dinamica internă a răspunsului imun, cît și cazurile de agammaglobulinemie recesivă „Bruton", legată de sex (în care bărbații, fiind hemizigoți pentru genele situate pe cromozomul X, sînt singurele victime ale mutațiilor dezavantajoase ale genei L). De asemenea, variația „solidară" a imunoglobulinelor G și A, pe de o parte, și cea „izolată" a Ig M în hipogammaglobulinemii (ambele nelegate de sex), pe de altă parte, concordă cu acest punct de vedere.

BIBLIOGRAFIE

Alexander, J., „Protoplasma", vol. 14, 1931, pp. 296—306.

Aronson, M., „J. exp. Med.", vol. 118, 1963, pp. 1083—1088.

Askonas, B. A., J. M. Rhodes, „Nature", 205, 1965, 470.

Attardi, G., M. Cohn, K. Horibata, E. S. Lennox, „Bact. Rev.", 23, 1959, 213.

Bach, F., K. Hirschhorn, „Exp. Cell. Res.", 32, 1963, 392—395.

Balș, M., *Boli infecțioase*, vol. I, Editura Medicală, București, 1957.

Banney, R. W., J. J. Vasquez, F. J. Dixon, „Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.", 109, 1962, 1—4.

Bessis, M. C., „Lab. Invest.", 10, 1961, 1041.

Breinl, F., F. Haurowitz, „Z. physiol. chemie", 192, 1930, 45—47.

Burnet, M., The clonal selection theory of acquired immunity, Cambridge, Univ. Press, 1959.

Burnet, F. M., F. Fenner, *The production of Andibody*, Millon Co., Melbourne, Mar, 1949.

Burnet, F. M., M. C. Holmes, „Heredity", vol. 19, 1964, 419.

Scanned with OKEN Scanner

Cohen, E. P., J. J. Parks, „Science", 144, 1964, 1012—1013.
Coons, A. H., „J. Cell comp. Physiol.", 52 (suppl.), 1958, 55—67.
Dumitrescu, M. C. Bona, A. Sulica, *Baza genetică a mecanismelor de apărare imunologică,* raport la Simpozionul de imunologie comparată, București, mai 1965.
Edelman, G. H., J. F. Heremans, M. Th. Heremans, H. G. Kenekel, „J. Exp. Med.", 112, 1960, 203—223.
Edelman, J. M., J. A. Gally, „Proc. Nat. Acad. Sci.", 51, 1964, 847.
Finch, L. R., „Nature", 201, 1964, 1288.
Gowans, J. L., „Brit. Med. Bull.", vol. 21, 1965, p. 106.
Harris, S., T. N. Harris, „J. Immunol.", 80, 1958, 316—323.
Hashem, N., F. S. Rosen, „Lancet", 2, 1964, 201—202.
Haurowitz, F., „Nature", 205, 1965, 847—851.
Hughes Jones, „Brit. Med. Bull.", 19, 1963, 135.
Jerne, N. K., „Proc. Nat. Acad. Sci.", 41, 1955, 849—859.
Kaplan, M. H., M. L. Suchy, „J. Exp. Med.", 119, 1964, 643.
Kelus, A. S., „Biochem J.", 88, 1963, 48.
Lederberg, J., „Stanford Med. Bull.", 19, 1961, 53—61.
Levine, B. B., B. Benacerraf, „J. Exp. Med.", 120, 1964, 955—965.
Manner, G., B. S. Gould, „Nature", 205, 1965, 670—671.
Markowitz, A. S., C. F. Lange, „J. Imun.", 92, 1964, 565.
Michelowsky, A., „Bull. de l'Acad. Pol. des Sci.", 12, 1964, 289—292.
Mudd, S., „J. Immunol.", 23, 1942, 423—427.
Nissonoff, A., J. Thorbecke, *Immunochemestry,* în „Ann. Rev. of biochem.", 33, 1964, 355.
Nossal, G. Y. V., O. Mäkelä, „Lab. Invest.", 10, 1961, 1094—1110.
Nossal, G. Y. V., *Cellular genetics of Immune Response* in *Advances in Immunology,* 2, ed. W. H. Taliaferro, J. H. Humphrey, Academic Press, New York — London, 1962, 163.
Pauling, L., „J. Amer. Chem. Soc.", 62, 1940, 2643—2657.
Porter, R. R., „Brit. Med. Bull.", 19, 1963, 197—201.
Ricke, W. O., M. R. Schwartz, „Blood", 23, 1964, 502—515.
Rifkind, R. A., E. F. Osserman, K. Hsu, C. Morgan, „J. Exp. Med.", 116, 1961, 423—432.

16

Implicațiile procesului de recunoaștere imunologică și baza lor genetică

În capitolul anterior s-a vorbit despre modul în care organismul se apără împotriva macromoleculelor străine și s-a subliniat faptul că punctul nodal al apărării imunologice îl reprezintă procesul de recunoaștere imunologică.

Am văzut, de asemenea, că recunoașterea imunologică poate fi explicată — în termenii teoriei selecției clonale — prin eliminarea funcțională, în perioadele timpurii ale ontogeniei, a tuturor clonelor celulare dotate cu potențial reactiv față de configurațiile macromoleculare autologe*. La naștere, organismul posedă clone „activabile", care corespund *numai* configurațiilor neprezente în organism în momentul realizării procesului de selecție a clonelor. Astfel, existența clonelor „activabile" explică posibilitatea răspunsului imun față de macromoleculele străine (adică reactivitatea imunologică realizată prin mecanisme umorale sau celulare) inexistența acestor clone cu potențial funcțional ar explica imposibilitatea apariției unui răspuns de același tip față de compușii proprii (adică nereactivitatea imunologică).

În acest context, procesul de recunoaștere imunologică este expresia capacității mecanismelor de apărare ale organismelor vii de a discrimina *self*-ul de *non-self*.

Nereactivitatea imunologică față de *self* nu înseamnă decît „tolerarea" de către mecanismele de apărare ale unui individ a tuturor compușilor proprii. Aceștia, pătrunzînd într-un mod oarecare în mediul intern al unui alt organism diferit din punct de vedere genetic, vor declanșa, cu cea mai mare probabilitate, o reacție de apărare.

Cu alte cuvinte, toleranța este o stare „cu extremă specifici-

* Este vorba de marea majoritate a acestora, adică de cele care sînt „circulante". Precizăm aceasta, întrucît există și compuși autologi „necirculanți", care — datorită claustrării în anumite structuri morfologice ce-i izolează de circulație — nu au, în mod normal, ocazia de a veni în contact cu celulele clonei corespunzătoare pe care să o paralizeze. Dintre acești compuși amintim tireoglobulina și cristalinul.

Scanned with OKEN Scanner

tate", care depinde în același timp de două variabile: de tipul particular de macromolecule la care ne referim și de tipul particular de gazdă. O stare de toleranță nu poate fi definită corect decît referindu-ne la o anumită valoare particulară pentru fiecare dintre aceste două variabile. Așa de pildă, se poate spune că organismul *A* tolerează macromoleculele *a*, dar nu și pe cele *b*, provenite de la organismul *B*.

Atunci cînd ne referim la întreaga ontogenie a unui individ, toleranța apare ca o proprietate dobîndită la un moment dat în cursul dezvoltării, ea nefiind cîtuși de puțin „direct" determinată genetic, ci o proprietate „epigenetică" (Triplett, 1962).

Mecanismul de producere a acestei stări, care după cum am arătat constituie cheia procesului de recunoaștere imunologică, este încă incomplet cunoscut. Se știe că celulele limfoide aparținînd unei anumite clone, atunci cînd sînt stimulate de către cantități proporționale (moderate) de macromolecule corespunzătoare, reacționează prin proliferare și sinteză de produși specifici: acesta este răspunsul imun.

Atunci cînd apare însă un raport disproporționat între anumite tipuri de macromolecule, care se găsesc în cantități prea mari, și celulele aparținînd clonei sau clonelor corespunzătoare, care se găsesc în număr prea mic, capacitatea funcțională a acestor celule este depășită: fiind „paralizate", acestea vor fi eliminate din circuitul funcțional al organismului. Acest fenomen de „paralizie imunologică", a cărei persistență depinde atît de cantitatea agentului care a indus-o, cît și de durata stimulării, explică de fapt starea de „toleranță imunologică", indiferent de momentul din ontogenie și de circumstanțele în care s-a produs*.

---

* Menționăm totuși faptul că gradul de maturitate a celulelor dotate cu reactivitate imunologică are și el o anumită importanță: intensitatea-prag pînă la care celulele imunologic competente sînt capabile să răspundă pozitiv (prin sinteză de anticorpi) la o stimulare antigenică este în mod evident mai mare în cazul celulelor mai diferențiate din clonele gata formate, decît pentru celulele mai imature din zona capetelor de clonă. Am atras atenția asupra acestui aspect important pentru a sublinia că, în ciuda deosebirii aparente pe care o constată orice experimentator atunci cînd lucrează cu indivizi de vîrste diferite, mecanismul de inducere a toleranței este în esență întotdeauna același: *producerea unei „paralizii imunologice" pe clona sau clonele corespunzătoare macromoleculelor în exces.*

Scanned with OKEN Scanner

În condiții fiziologice, singurele macromolecule care îndeplinesc cele două cerințe mai sus amintite sînt cele proprii (autologe). Numărul foarte mare și prezența permanentă în organism a acestor compuși explică paralizia clonelor celulare cu potențial reactiv împotriva lor. Acesta este mecanismul de apariție a „ariei de toleranță fiziologică" ce corespunde *self*-ului. Discriminarea dintre *self* și *non-self*, adică recunoașterea imunologică, reprezintă consecința directă a stabilirii acestei „arii de toleranță", care asigură un avantaj selectiv esențial — lipsa de autoagresiune, deci autocompatibilitatea. Acum este clar de ce atît toleranța față de anumiți compuși *non-self*, cît și boala de autoagresiune reprezintă entități complementare, (fiind cele două fațete ale unei aceleiași medalii, și anume deplasarea — dintr-un motiv oarecare — spre înafară sau spre înăuntru a graniței „ariei de toleranță").

Majoritatea datelor referitoare la mecanismul toleranței provin dintr-un domeniu special al imunologiei, care s-a dezvoltat în scopul rezolvării unei probleme de mare interes chirurgical — studiul transplantelor și al grefelor. Se știe că majoritatea încercărilor de a înlocui pe cale chirurgicală anumite țesuturi și organe lezate se soldează, mai devreme sau mai tîrziu, cu un eșec. În aceste cazuri are loc eliminarea grefonului datorită *imunității de transplantare*.

Observația că soarta unui țesut grefat respectă anumite reguli sugerează în mod concludent determinismul imunogenetic al relațiilor dintre gazdă și grefă*. Aceste reguli sînt:

1. Autogrefele, adică transplantarea unui țesut dintr-o regiune într-alta a aceluiași individ, prind întotdeauna.

2. Izogrefele (grefele care provin de la o persoană identică din punct de vedere genetic cu gazda, ca, de exemplu, gemenul monozigotic) prind, de asemenea, întotdeauna.

3. Homogrefele (grefele care provin de la un individ din aceeași specie, dar puțin sau de loc înrudit cu primitorul) sînt inițial „acceptate", însă cu timpul sînt eliminate. Viteza de res-

* Interacțiunea dintre gazdă și grefă reprezintă de fapt consecința relațiilor de compatibilitate existente între două țesuturi: de aci vine numele de histocompatibilitate.

Scanned with OKEN Scanner

pingere a homografelor este cu atît mai mică, cu cît indivizii sînt mai îndeaproape înrudiţi din punct de vedere genetic.

4. Heterografele, adică transplantele care provin de la donatori de altă specie decît primitorul, sînt întotdeauna eliminate mai repede decît homografele, cu atît mai repede, cu cît distanţa genetică (filogenetică) dintre specia donatorului şi a primitorului este mai mare.

5. Intervalul de timp existent între momentul grefării şi cel al declanşării reacţiei de respingere a homo- sau heterografelor nu este niciodată mai scurt decît timpul necesar pentru declanşarea unei reacţii obişnuite de apărare imunologică. Mai mult decît atît, repetarea transplantării unei grefe provenite de la acelaşi donator declanşează o reacţie de respingere cu atît mai rapidă, cu cît numărul de ordine al repetării este mai mare.

Cu ajutorul unor studii genetice foarte complexe şi minuţioase, Snell a sintetizat, sub forma a patru legi, modalităţile precise după care sînt acceptate grefele străine, furnizînd totodată şi explicaţia ştiinţifică a unor insuccese aparent paradoxale.

Astfel, primele două legi: 1) *izografele prind întotdeauna* şi 2) *homografele prind temporar, ele fiind apoi de regulă respinse,* reprezintă corespondenţa pe care a stabilit-o între genetică şi imunologia transplantelor. Celelalte două legi: 3) *toţi hibrizii din generaţia* F_1 *obţinuţi prin încrucişarea a două linii pure acceptă grefe de la oricare din liniile parentale* şi 4) *fracţiunea din generaţia* F_2 *obţinută prin încrucişarea hibrizilor între ei, care este capabilă să accepte grefele de la oricare parental* (P) *dat, corespunde pentru fiecare caz la* $^3/_4$ *din numărul indivizilor generaţiei* F_2, nu reprezintă altceva decît aplicarea în domeniul imunologiei transplantelor a unor principii mendeliene, şi anume: a) principiul uniformităţii hibrizilor în F_1 şi b) legea segregării caracterelor în F_2.

Studiile tot mai amănunţite şi mai riguroase efectuate asupra imunităţii de transplantare au arătat că acest fenomen reprezintă de fapt o implicaţie directă a procesului de recunoaştere imunologică. Ţinînd seamă de faptul că transplantul este constituit din macromolecule organizate în celule conform mesajului genetic al donatorului, acceptarea sau respingerea fiecărei grefe

în parte este consecința recunoașterii componenților săi macromoleculari ca fiind sau nu incluși în „aria de toleranță" a gazdei respective.

Macromoleculele care în mod normal nu sînt cuprinse în „aria de toleranță" se vor comporta ca orice substanță străină, determinînd producerea unei reacții imune împotriva lor și, implicit, împotriva grefei care le conține. De aceea, în mod curent, ele sînt numite antigene de transplantare.

În ultima vreme numeroase cercetări au abordat aspecte diverse ale antigenelor de transplantare. Astfel, s-a văzut că acestea sînt substanțe lipoproteice, localizate de obicei pe membrana celulară și prezente în cantități variate pe toate tipurile celulare ale unui organism. Biosinteza acestor antigene este determinată de alelele dominante ale unor locusuri ce segregă independent și ale căror efecte sînt pleiotrope; penetranța lor variază atît în funcție de individ, cît și de locus, determinînd sinteza unor compuși cu antigenicitate variabilă. Studii efectuate pe animale de experiență (șoareci) au arătat că dintre locusurile răspunzătoare de histocompatibilitate, unele sînt situate pe cromozomii sexuali, iar altele pe autozomi.

Modul de realizare al reacției imune antigrefă* este în general asemănător oricărei reacții de apărare imunologică. Astfel, informația antigenică provenită de la grefon este recepționată la nivelul ganglionilor limfatici regionali de către celulele cap de clonă corespunzătoare. În consecință, acestea proliferează, dînd naștere unor clone de celule cu reactivitate imunologică bine precizată (celule limfoide mici „condiționate") care, pe cale umorală — prin intermediul anticorpilor produși — sau pe calea celulară a reacției de hipersensibilitate întîrziată**, vor declanșa respingerea grefei. Substratul intim al reacției de respingere nu

---

* Reacția imună antigrefă apare numai față de țesuturi vascularizate. Grefele „străine" de cartilaj și cornee — țesuturi în general avasculare — sînt acceptate și supraviețuiesc un timp nelimitat. Aceasta se datorește faptului că macromoleculele din care sînt constituite grefele respective nu vor funcționa ca antigene, întrucît ele nu pot difuza în mediul intern al gazdei.

** Tip de reacție imună „celulară" al cărei efector este limfocitul „condiționat". Această modalitate reactivă stă la baza hipersensibilității la tuberculină, ca și a alergiei în general.

Scanned with OKEN Scanner

este încă binecunoscut. Se pare că ea se datorește acțiunii citotoxice exercitate asupra celulelor „străine" din grefă, atît de către limfocitele „condiționate" (acestea invadînd țesutul transplantat), cît și de către anticorpi. Ambele mecanisme amintite pot fi considerate ca jucînd un rol în distrugerea și eliminarea grefelor străine (Gowans, 1965).

Pe de altă parte, reacția imună de eliminare a grefelor nu apare atunci cînd *constituenții antigenici ai unui țesut transplantat sînt cuprinși în „aria de toleranță"* a individului respectiv. Acceptarea unei grefe poate fi astfel *definitivă,* dacă toate antigenele grefei transplantate corespund din punct de vedere structural cu „aria de toleranță" a primitorului, ele fiind recunoscute ca *self,* indiferent dacă provin de la o aceeași persoană, ca în cazul autografelor, sau de la un alt individ identic din punct de vedere genetic cu primitorul, ca în cazul izografelor realizate între gemeni monozigoți.

Alteori, acceptarea unei grefe poate fi *temporară.* În acest caz numai o parte din antigene au corespondenți în aria de toleranță a primitorului. Restul antigenelor de transplantare, fiind recunoscute ca *non-self,* vor determina, mai devreme sau mai tîrziu, reacția imună împotriva grefei, ca în cazul homografelor.

Într-o anumită populație, din cauza variabilității alelice și a numărului mare de gene ce controlează sinteza antigenelor de transplantare, probabilitatea de a găsi doi indivizi diferiți între care să existe relații de histocompatibilitate totală este extrem de redusă. Întrucît timpul de supraviețuire al unei homografe este variabil, fiind determinat de gradul înrudirii genetice dintre gazdă și grefă, experimentatorul trebuie să caute un donator de grefă cît mai „genetic înrudit" cu primitorul. Diverse tehnici de lucru, cum sînt: corelarea hărții antigenelor de grup sanguin cu cea a antigenelor de transplantare; studiul antigenelor leucocitare; injectarea intradermică a limfocitelor primitorului la donatorul de grefă, ca și testul aglutinării leucocitelor, permit efectuarea unei comparații mai mult sau mai puțin aproximative între antigenele de transplantare a doi indivizi dintr-o populație, astfel încît histocompatibilitatea dintre primitor și donatorul selectat să fie cea mai mare cu putință.

Totuși, chiar aplicarea conștiincioasă a tehnicelor menționate nu permite decît o evaluare incompletă a compatibilității, fapt

Scanned with OKEN Scanner

care limitează șansele și durata de supraviețuire a unei homografe.

Pe de altă parte, prelungirea timpului de „acceptare" a unei grefe străine necesită utilizarea unor mijloace suplimentare capabile să favorizeze supraviețuirea homografelor. Aceste metode acționează prin:

1. *Diminuarea nespecifică a potențialului imun al gazdei* cu ajutorul iradierii generale sau localizate, administrării unor substanțe imunosupresive, reducerii masei țesutului limfoid prin timectomie, splenectomie etc. Deși aceste tehnici prelungesc în mod apreciabil timpul de supraviețuire, ele nu sînt capabile, totuși, să determine „acceptarea" definitivă a homografei, întrucît după un timp potențialul imun se reface și va declanșa deci reacția de eliminare a grefei străine.

2. *Diminuarea specifică a potențialului imun al gazdei.* Această modalitate de înlăturare a incompatibilității tisulare se bazează pe „lărgirea artificială" a „ariei de toleranță", astfel încît homografa transplantată ulterior să nu mai fie recunoscută ca „străină"; ea va fi acceptată atîta timp cît aria de toleranță se va menține lărgită.

Prin lărgirea ariei de toleranță se înțelege, de fapt, „paralizarea" clonei corespunzătoare unui antigen ajuns în mod natural sau artificial în mediul intern al unui macroorganism, astfel încît acesta nu va mai fi recunoscut ca *non-self*. Acest antigen va fi „tolerat" ca oricare alt compus autolog. Cunoscînd mecanismul prin care se stabilește „aria de toleranță fiziologică" corespunzătoare *self*-ului, vom putea înțelege modul în care poate fi indusă o toleranță imunologică „dobîndită", cu alte cuvinte, cum se poate obține o „lărgire artificială" în cursul vieții a ariei de toleranță fiziologică.

Studii numeroase și minuțioase, bazate pe diverse modele experimentale, au furnizat atît datele prin care s-au confirmat ipotezele referitoare la mecanismul de producere, caracteristicile și posibilitățile de lărgire a ariei de toleranță fiziologică, cît și puncte de plecare pentru construirea a noi ipoteze. Menționăm totuși că diferitele metode care permit inducerea toleranței de homografă la animalele de laborator nu au putut fi aplicate pînă acum în practica chirurgicală, întrucît acestea

Scanned with OKEN Scanner

traumatizează violent gazda, adică pacientul uman (Woodruff, 1964).

Boala de autoagresiune este consecința apariției unui potențial imunologic reactiv „anormal" față de unul sau mai mulți constituenți autologi care, implicit, vor fi lezați din punct de vedere structural sau funcțional. Acest tip de afecțiune corespunde, indiferent de cauză, situației în care *self*-ul nu mai este acoperit în întregime de către aria de toleranță fiziologică. În consecință, porțiunile din *self* situate în afara acestei „arii" se vor comporta ca antigene, devenind „ținta" activității agresive a mecanismelor proprii de apărare imunologică.

Modalitățile prin care un organism poate să ajungă la autoagresiune constau fie în modificarea configurației structurale a macromoleculelor autologe, adică modificarea *self*-ului, fie în restrîngerea ariei de toleranță fiziologică.

Factorii care pot duce la modificarea *self*-ului sînt:

1. O serie întreagă de substanțe chimice care, ajungînd ocazional în mediul intern al organismului, au proprietatea de a se cupla cu anumite macromolecule proprii. Ca urmare, structura compușilor autologi va fi alterată într-o asemenea măsură, încît aceștia se vor comporta ca „autoantigene", pentru că au fost recunoscute ca *non-self*. Autoantigenele vor constitui punctul de plecare al unor cercuri patologice vicioase, cu urmări dintre cele mai grave asupra integrității organismului.

Tot în această categorie trebuie încadrate modificările compușilor proprii, rezultate din infecții bacteriene sau virotice, ca și fenomenele de autoagresiune secundare unei reacții încrucișate dintre anticorpii sintetizați împotriva unor microorganisme, ai căror determinanți antigenici sînt înrudiți structural cu *self*-ul, și unele macromolecule autologe. Astfel, leziunile din glomerulonefrita acută sau reumatismul poliarticular acut, afecțiuni declanșate printr-o infecție streptococică, s-ar datora fie acțiunii autoanticorpilor apăruți ca urmare a alterării compușilor autologi renali sau miocardici, fie acțiunii unor anticorpi inițial antistreptococici și numai ulterior antirenali sau antimiocardici (Kaplan, 1964, Markowitz, 1964).

2. Intrarea în circulație (ca urmare a lezării unor bariere anatomice) a unor compuși care se găsesc în mod normal claustrați. Aceștia vor fi recunoscuți ca *non-self*, declanșînd astfel

formarea autoanticorpilor specifici de țesut, ce vor determina producerea unor afecțiuni autoimune, ca: aspermatogeneza, oftalmia simpatică, tiroidita Hashimoto. În această ultimă boală anticorpii antitireoglobulină prezenți în circulație ar fi responsabili — prin acțiunea lor citotoxică — de distrugerea țesutului glandular normal. Ca rezultat al interacțiunii cu aceste celule, s-ar elibera noi cantități de antigen, care ar întreține și chiar agrava boala autoimună (Roitt, 1959).

3. Mutațiile somatice, a căror frecvență crește cu vîrsta și care — prin expresia lor fenotipică la nivelul celulelor respective — determină modificarea *self*-ului comparativ cu cel pentru care se stabilise (în perioada potrivită din ontogenie) aria de toleranță. Acești compuși noi — în fond tot proprii, dar nerecunoscuți ca atare — vor fi victimele mecanismelor de apărare ale propriului organism. Această scădere a acurateții biosintezei proteinelor autologe reprezintă, după Orgel (1962), una dintre explicațiile plauzibile ale procesului de îmbătrînire.

Factorii care pot duce la restrîngerea ariei de toleranță fiziologică sînt mutațiile somatice ale celulelor liniei limfo-plasmocitară: acestea vor determina proliferarea unei clone „interzise".

După Burnet (1964), clona „interzisă" ar rezulta dintr-o celulă cap de clonă capabilă să reacționeze cu unul din compușii *self*-ului. Ca urmare a unei mutații somatice, această celulă normal „inhibată" poate deveni insensibilă la acțiunea „paralizantă" a cantităților de compuși corespunzători existenți, astfel încît — în momentul realizării ariei de toleranță fiziologice — ea nu va mai fi „eliminată funcțional". Ulterior, în cursul dezvoltării organismului, clona interzisă se va comporta ca oricare clonă „activabilă": venind în contact cu compușii autologi corespunzători va declanșa mecanismele autoimune ce stau la baza a numeroase afecțiuni, ca, de exemplu, lupusul eritematos difuz, miastenia gravis, artrita reumatoidă etc.*.

---

* A se consulta bibliografia de la cap. 15.

Scanned with OKEN Scanner

17

Ereditatea și malformațiile congenitale

Malformațiile congenitale sînt tot atît de vechi ca și istoria omenirii. Cercetările de paleoantropologie au descoperit variate malformații printre scheletele epocii de piatră. Ceva mai tîrziu, malformațiile au populat mitologia babiloniană, egipteană și literatura greacă veche. Printre tăblițele găsite în Biblioteca din Ninive — tăblițe care se crede că au fost scrise în mileniul al II-lea î.e.n. — se găsește o listă cu 62 de malformații. Cu excepția uneia singure, toate anomaliile descrise sînt reale.

Pînă în secolul al XIX-lea nu se știa nimic despre originea malformațiilor congenitale. Astfel, celebrul medic francez A. Paré — care a trăit în secolul al XVII-lea — considera că prima cauză a malformațiilor o constituie gloria lui Dumnezeu, iar a doua mînia lui. De-abia la începutul secolului trecut, o dată cu apariția embriologiei experimentale, originea malformațiilor trece din domeniul ipotezelor în domeniul științei.

Primele cercetări de embriologie experimentală au fost întreprinse de Etienne și G. St. Hilaire asupra ouălor; urmează apoi cercetările lui Camille Dareste. Ei au reușit să obțină pui anormali din ouăle zdruncinate, răcite sau încălzite brusc. Cercetările acestor deschizători de drumuri trec însă neobservate, deoarece malformațiile nu constituiau încă o preocupare de seamă a medicilor din secolul al XIX-lea. Ele erau atribuite factorilor de mediu.

La începutul secolului al XX-lea, o dată cu nașterea geneticii moderne, în entuziasmul primelor descoperiri, se presupune că toate malformațiile se datoresc modificărilor ereditare. În ultimele două decenii a început din nou să se acorde un rol important condițiilor mezologice. Această schimbare de poziție a fost determinată de descoperirea faptului că foarte multe malformații considerate ereditare pot fi obținute la mamifere pe cale experimentală. În 1907, van Hippel descoperă ro-

Scanned with OKEN Scanner

lul malformativ al radiațiilor X. Mai tîrziu, în 1936, Vera Dantschakoff obține malformații la cobai cu hormoni masculini. Cam în aceeași perioadă, Hale arată că o alimentație lipsită de vitamina A antrenează malformații la porcine, iar în 1948, Haskin reliefează acțiunea teratogenă a substanțelor anticanceroase la șobolan. În același an, Gillman pune în evidență, tot la șobolan, efectul malformativ al substanței tripan-bleu, iar în 1950, Baxter și Fraser arată că unul dintre hormonii glandei suprarenale — cortizonul — este un puternic factor teratogen.

Numeroase alte cercetări au arătat că în condiții experimentale seria agenților teratogeni este deosebit de mare. Ei pot fi împărțiți în mai multe grupe (Fave, 1964):

1. Agenți chimici
   - substanțe minerale
   - substanțe organice
     - medicamente (antimetaboliți, antineoplazice, vitamine, hormoni, antibiotice)
     - nemedicamente
2. Agenți fizici
   - modificări atmosferice (presiune, hipoxie)
   - radioelemente
   - radiații ionizante
   - ultrasunete
3. Tulburări metabolice (carențe minerale și vitaminice)
4. Agenți infecțioși
5. Factori imunologici
   - anticorpi
   - vaccinuri
   - toxine
6. Modificări fiziologice (febră, *stress*).

Pe lîngă acești agenți, un rol important în apariția malformațiilor congenitale îl au tulburările genetice — mutațiile genice și cromozomiale.

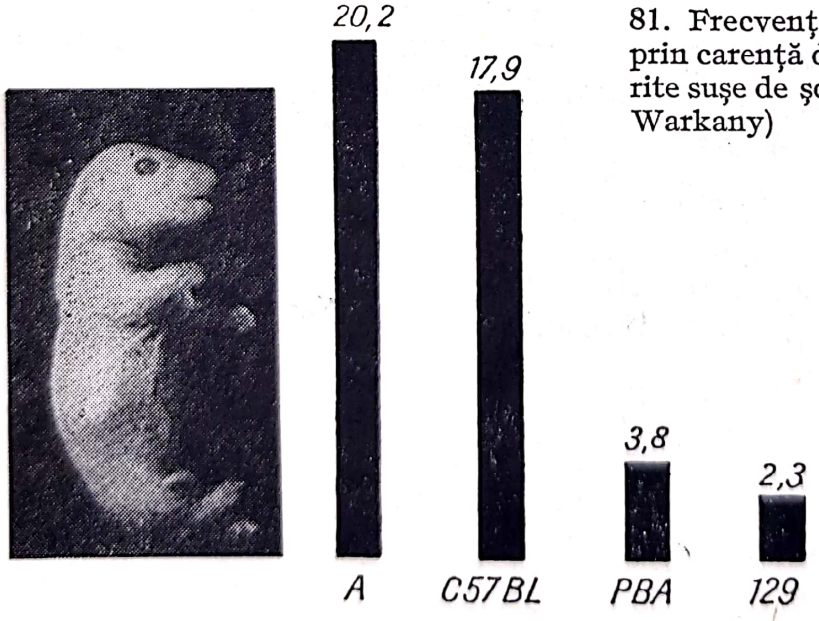
Malformațiile congenitale nu sînt consecința exclusivă a factorilor teratogeni. Cele mai multe malformații sînt rezultatul interacțiunii dintre organism și mediu. Această afirmație este sprijinită de numeroase cercetări experimentale, precum și de faptul că malformațiile au tendința de a apărea la mai mulți membri ai aceleiași familii.

Scanned with OKEN Scanner

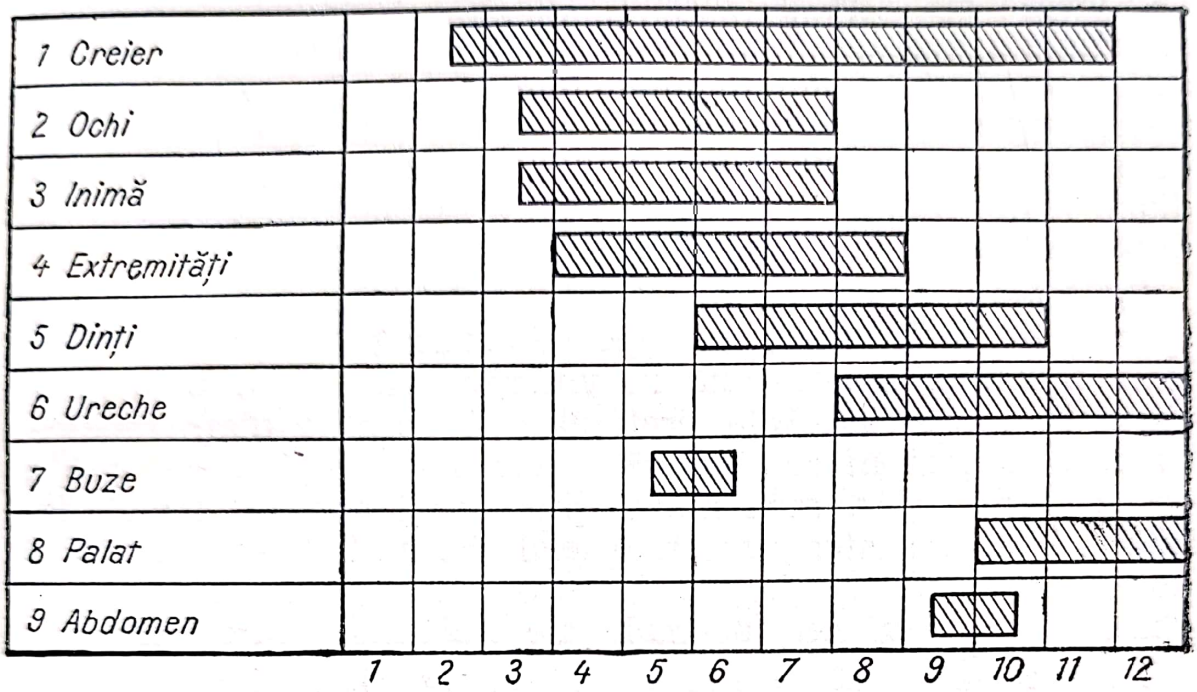
Astfel, în condiţii experimentale, cortizonul administrat şoarecilor femele în timpul sarcinii determină la descendenţi palatoschizis. Frecvenţa anomaliei este condiţionată însă de sensibilitatea genetică a liniei animale. În susa Strong, 100% dintre puii femelelor tratate cu cortizon prezintă fanta palatină. În susa C_3H, frecvenţa este de numai 36,3%. Se cunosc şi susе rezistente la cortizon.

După administrarea tiroxinei, frecvenţa cataractei variază în funcţie de variabilitatea genetică a susei între 1—20%. De asemenea, efectele teratogene ale galactoflavinei sînt condiţionate de susa de şoareci. Efectele anoxiei depind, de asemenea, de sensibilitatea genetică a animalului. Dacă se expun femele de şoareci însărcinate unei presiuni atmosferice de 260 mm se constată că frecvenţa herniilor ombilicale variază de la o linie la alta.

Uneori agenţii teratogeni favorizează doar apariţia unei anumite malformaţii. Astfel, la şobolanii din susa Long Evans, herniile diafragmatice apar spontan la 2,8% dintre pui. După o alimentaţie a mamei carenţată în vitamina A, frecvenţa malformaţiei creşte la 19%.



81. Frecvenţa anomaliilor oculare prin carenţă de vitamină B_2 la diferite suşe de şoareci (după Kalter şi Warkany)



82. Orarul embriologic

Efectele teratogene depind și de sensibilitatea speciei. De pildă, cortizonul produce fantă palatină la șoarece și iepure, dar nu are nici un efect nociv la șobolan. Aceste observații au dus la concluzia că constituția genetică a embrionului determină un anumit prag de reacție față de efectele diverșilor factori teratogeni. Malformațiile apar numai dacă este depășit acest prag specific.

Alături de structura genetică a animalului, efectele agenților teratogeni depind și de alți factori. Unul dintre aceștia este orarul embriologic, adică gradul de dezvoltare a embrionului. Fiecare organ are o perioadă de maximă sensibilitate. În general, după săptămîna a 10-a—a 12-a, adică după terminarea perioadei de organogeneză la om, acțiunea factorilor teratogeni scade, iar după luna a 4-a influența lor devine neglijabilă. De fapt, în perioada fetală apar doar leziuni degenerative sau tulburări de creștere. În prima perioadă, de segmentare a oului, prezența agenților teratogeni poate fi letală.

În cursul cercetărilor de teratologie s-a constatat că diferiți agenți determină aceeași malformație dacă sînt administrați

în același moment al dezvoltării embrionare, și că același agent antrenează malformații variate dacă este administrat în etape diferite ale evoluției embrionare. Așa se explică de ce uneori acțiunea agentului folosit pare nespecifică. Cu toate acestea, fiecare agent intervine specific asupra unui aspect al metabolismului celular. Pentru a ilustra această teză, Wilson studiază malformațiile întîlnite după deficiența în vitamina A, după deficiența în riboflavină și după iradieri.

Într-adevăr, fiecare din aceste substanțe antrenează un spectru de malformații aproape caracteristic. După o alimentație a mamei insuficientă în vitamina A, la pui predomină anomalii ale retinei, ale ureterelor și herniile diafragmatice. Carența mamei în riboflavină determină la pui o scurtare a oaselor lungi și a mandibulei, precum și apariția fantei palatine. Iradierea afectează în special sistemul nervos central și determină malformații grave (encefalocel și anencefalie). Se observă, de asemenea, anomalii ale tractului genito-urinar.

Doza administrată are și ea un rol hotărîtor. Există o doză specifică care antrenează o zonă de maxime malformații. Această zonă teratogenă este însă foarte mică. Depășirea ei are efecte letale. Ca atare, pentru fiecare substanță există o zonă mixtă teratogenă, letală.

Acțiunea teratogenă a unei substanțe este condiționată de posibilitatea trecerii ei prin placentă. Substanța poate străbate bariera placentară ca atare sau modificată. Astfel, se pare că efectul masculinizant al hormonilor feminini (estrogeni) se datorește conversiunii lor în hormoni masculini (androgeni). Uneori malformațiile sînt consecutive modificărilor degenerative placentare produse de substanța administrată. De pildă, serotonina administrată mamei produce moartea rapidă a fătului. Acțiunea letală se datorește modificărilor placentare. Administrată direct intraembrionar nu are însă efecte malformative.

În condiții experimentale, malformațiile congenitale se pot obține extrem de ușor. Totuși, extrapolarea la om a observațiilor experimentale trebuie făcută cu foarte multe rezerve. Deseori se experimentează în condiții nefiziologice, folosindu-se factori teratogeni cu acțiune brutală sau agenți care, în condiții obișnuite, numai în mod excepțional ar fi influențat dez-

Scanned with OKEN Scanner

voltarea embrionului. De asemenea, nu se pot extrapola la om rezultatele negative obținute experimental.

Despre frecvența și natura factorilor cu acțiune teratogenă la om se știe încă foarte puțin. Se consideră că numărul lor este relativ mic: mutațiile genice și cromozomiale, radiațiile, unii hormoni și cîteva infecții.

Conceptul de malformații

Se pare că prima definiție a malformațiilor congenitale aparține lui G. St. Hilaire, care a arătat că acest termen desemnează „orice particularitate organică pe care o prezintă un individ în comparație cu marea majoritate a indivizilor speciei, vîrstei și sexului său". Mai mult sau mai puțin modificată, definiția a fost larg acceptată. În 1959, Fraser rezerva încă termenul de malformații pentru marile anomalii structurale evidente la naștere. Deși cuprinzătoare, aceste definiții au totuși un caracter limitat. Așa cum remarca Menkes (1964), în cadrul malformațiilor congenitale trebuie incluse nu numai anomaliile morfologice, ci și cele care au loc la nivel molecular. Malformațiile congenitale includ, astfel, toate anomaliile biochimice sau morfologice care apar în cursul dezvoltării prenatale.

După momentul în care apar, se deosebesc: gametopatii, zigopatii, embriopatii și fetopatii. Fiecare dintre aceste etape se caracterizează prin malformații caracteristice. Privite astfel, malformațiile acoperă un domeniu imens al patologiei umane, de la hemoglobinopatii pînă la anencefalii.

Această reformulare are însă marele dezavantaj că nu permite aprecierea corectă a frecvenței. Toate statisticile privesc numai malformațiile majore evidente la naștere. Cele care apar mai tîrziu — ca, de pildă, malformațiile dentare — sînt rareori estimate. Dacă în statistici se includ — conform definiției — și tulburările genetice care se dezvoltă tîrziu (coreea Hutington sau atrofia cerebrală), atunci devine evident că incidența reală a malformațiilor umane este mult mai mare decît cea apreciată la naștere.

Scanned with OKEN Scanner

Incidența malformațiilor congenitale

Cele mai multe statistici publicate includ numai malformațiile întîlnite printre copiii născuți vii sau morți la termen. În aceste condiții, se pare că distribuția malformațiilor congenitale nu cunoaște variații geografice importante. În aproape toate regiunile lumii, frecvența lor oscilează între 2 și 3%. Malformațiile congenitale sînt însă foarte frecvent întîlnite la embrionii și fetușii avortați. Astfel, din 1 000 de embrioni avortați, 617 prezentau caractere patologice. Printre fetușii născuți vii, cu o greutate mai mică de 1 000 g, 8% aveau anomalii importante. La fetușii mai mari, de 1 000 pînă la 2 500 g, născuți vii, malformațiile ating 1,7%.

INCIDENȚA MALFORMAȚIILOR ÎN DIFERITE REGIUNI ALE LUMII

Țara	Localitatea	Anul	Numărul de nașteri	Frecvența	Autorul
Italia	Torino	1950/1958	15 724	0,73%	Quaini
Italia	Brescia	1945/1960	28 152	0,82%	Vignali
Franța	Paris	1941/1960	79 844	0,74%	Turpin
Germania	Berlin	1950/1956	201 692	0,88%	Winter
Germania	Offenbach	1950/1956	4 182	1,22%	Lewin
Elveția	Geneva	1955—1960	9 629	0,2%	Sayegh
Anglia	Birmingham	1950/1952	56 760	1,73%	Mc Keown
Suedia	Lund	1927—1946	44 190	1,33%	Bőők
Japonia	Hiroshima	1945—1954	64 570	1,22%	Neel
	Nagasaki				

Dacă se cercetează însă sistematic toți copiii în cursul primilor lor ani de viață, incidența malformațiilor congenitale devine considerabil mai mare. În Anglia, la Birmingham incidența a crescut de la 1,73% la naștere, la 2,30% la 5 ani, iar în Japonia, de la 1,22% la naștere la 2,45% la 9 luni. S-ar putea ca aceste valori să fie și mai mari. Astfel, în 1954, Mc Intoch afirmă că 7,3% dintre nou-născuți manifestă malformații diverse, ce pot fi recunoscute în primii 7 ani de viață.

Scanned with OKEN Scanner

Frecvența diferitelor malformații este inegală. Astfel, după Sayegh (1963), la Geneva, din 9 629 de nașteri, 115 prezentau malformațiile din tabelul alăturat:

Boala	Numărul de cazuri	Frecvență
Mongolism	7	6%
Malformații faciale	12	10,5%
Malformații ale sistemului nervos central	17	15%
Malformații cardiovasculare	8	7%
Malformații uro-genitale	15	13%
Malformații ale membrelor	28	24,5%
Malformații multiple	16	13,5%
Diverse alte malformații	12	10,5%

La Paris, în perioada 1941—1950, Turpin studiază 79 844 de nașteri din care 534 prezentau următoarele malformații:

Boala	Numărul de cazuri	Frecvență
Buză de iepure	63	9,8%
Malformații ale sistemului nervos	99	15,4%
Malformații de tub digestiv	42	6,6%
Malformații genitale	78	12,2%
Malformații ale degetelor mîinilor și picioarelor	51—109	7,9%—16,9%
Malformații ale membrelor	34	5,3%
Malformații diverse și multiple	167	25,8%

Din aceste tabele se remarcă marea frecvență a malformațiilor membrelor, ale sistemului nervos central și ale tractului uro-genital.

Paralel cu aprecierea globală a malformațiilor congenitale,

Scanned with OKEN Scanner

s-a pus în evidență faptul că anomaliile congenitale cunosc semnificative variații calitative, care pot fi urmărite în tabelul de mai jos, unde este dată frecvența malformațiilor la 10 000 de nașteri.

Regiunea	Anencefalie	Spina bifidă meningocel	Polidactilie	Buză de iepure izolată sau asociată cu fanta palatină și fanta palatină izolată	Atrezia anusului
Irlanda de nord	46	29	—	5	1
S.U.A.	11	13	8	13	—
Japonia	6	2	10	23	3
Elveția	6	12	5	13	4
Franța	5	5	3	11	1
Suedia	5	11	7	18	4

Cea mai binecunoscută este anencefalia. Frecvența ei scade din Irlanda de nord și Scoția spre Anglia meridională și Europa continentală. De asemenea, polidactilia are o frecvență de 4,0% la negrii din S.U.A., în timp ce la japonezi ea este de 4 ori mai mică, iar la elvețieni de 8 ori mai mică. În schimb, la negrii americani anencefalia este extrem de rară față de celelalte două țări. Aceste variații au un substrat ereditar.

Este însă neîndoielnic că aceste date exprimă numai incidența prezentă a malformațiilor. După toate probabilitățile, în anii următori frecvența lor va crește. Cercetările comparative au demonstrat că în cursul ultimilor ani incidența malformațiilor în S.U.A., a crescut cu 20%, iar în Suedia, cu o treime. În 1921, la Bazel se întîlneau numai 0,2% copii cu malformații, în timp ce în 1944 numărul acestora a crescut la 1,4%.

Această creștere se datorește într-o oarecare măsură ameliorării condițiilor sanitare și introducerii în tehnica chirurgicală a unor noi procedee tehnice. De pildă, femeile condrodistrofice nasc cu cezariană, copiii cu stenoză pilorică sînt operați și supraviețuiesc născînd, la rîndul lor, copii afectați. Numeroase maladii scheletice sînt corectate și permit purtătorilor să ducă o viață normală. Dar acest fapt asigură transmiterea la descendenți a mutațiilor.

Scanned with OKEN Scanner

Totodată a crescut foarte mult și morbiditatea. Așa de exemplu, copii cu sindrom Down trăiesc mult mai mult decît înainte de descoperirea antibioticelor, iar numeroase tulburări metabolice sînt descoperite și deseori ameliorate.

Important este însă faptul că această continuă creștere se datorește din ce în ce mai mult factorilor ereditari. În acest sens, este demonstrativ studiul făcut în perioada 1914—1954 asupra cauzelor mortalității infantile în Anglia. În 1914, factorii de mediu, îndeosebi infecțiile, reprezentau 60% din totalul cauzelor mortalității infantile. Factorii genetici și parțial genetici constituiau numai 16,5%. În 1954, factorii de mediu au scăzut la 14,5%, iar factorii genetici și parțial genetici au crescut la 37,5%. S-a remarcat totodată că orbirea prin cauze ereditare a crescut de la 37% în 1922, la 62% în 1960.

În geneza malformațiilor un rol important îl are și sexul. Deși nu se cunosc factorii care favorizează apariția mai frecventă a unei malformații la un sex sau altul, este cert că la băieți predomină anomaliile sistemului circulator, ale aparatului digestiv și ale tractului uro-genital, în timp ce la fete sînt mai frecvente anencefalia, spina bifida și meningocelul.

Malformațiile congenitale reprezintă una dintre cele mai importante cauze ale mortalității infantile. Astfel, în S.U.A., în perioada 1951—1953, 13,9% din cazurile de mortalitate infantilă aveau drept cauză o malformație congenitală. Între anii 1951 și 1954, în Elveția 15,6% dintre copiii care decedau în primul an de viață își datorau moartea aceleiași cauze. După vîrsta de un an, procentul de decese provocate de malformații congenitale scade.

Țara	0—1 ani	1—4 ani	5—14 ani	15—44 ani
Suedia	19,0%	9,8%	3,9%	—
Anglia	18,8%	11,9%	6,5%	1,6%
Canada	15,7%	8,6%	4,4%	1,1%
S.U.A.	14,3%	11,0%	5,6%	—

Scanned with OKEN Scanner

Datorită marii lor frecvenţe, malformaţiile congenitale constituie astfel una dintre cele mai importante cauze ale mortalităţii umane. Iată rangul pe care îl ocupă malformaţiile congenitale printre cauzele mortalităţii diferitelor grupe de vîrstă.

Ţara	0–1 ani	1–4 ani	5–14 ani	15–44 ani
Suedia	2	4	3	—
Anglia	2	3	3	10
Canada	2	3	3	10
S.U.A.	2	3	3	—

Ereditatea şi malformaţiile congenitale

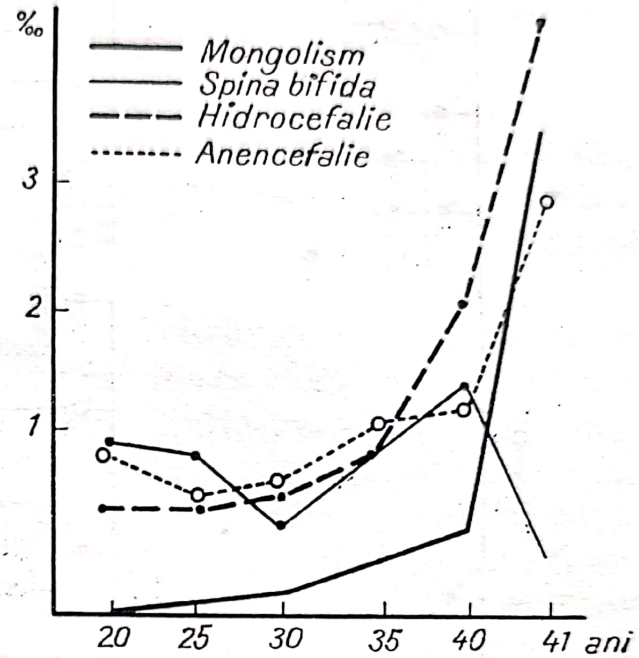
În 1958, Comitetul ştiinţific al Naţiunilor Unite a apreciat că frecvenţa medie universală a malformaţiilor congenitale este de 2,5%. Dintre acestea, aproape 1% sînt de origine ereditară. Acest procent include: 0,5% malformaţii consecutive mutaţiei unei singure gene; 0,2% mongolism; 0,2% alte anomalii cromozomiale.

Mutaţiile sînt singura cauză a malformaţiilor de origine ereditară. Apariţia unei mutaţii întrerupe continuitatea unui caracter şi în locul acestuia apare de obicei altul. Noul caracter este aproape întotdeauna defavorabil organismului. Există şi mutaţii utile, dar numărul lor este mult mai mic.

Nu ne vom opri asupra cauzelor mutaţiilor, deoarece ele au fost analizate în prima parte a acestei cărţi. Reamintim totuşi că vîrsta înaintată a părinţilor constituie unul dintre cei mai importanţi factori mutageni. Astfel, în 1951, Hegnauer, studiind 142 000 de nou-născuţi, constată că incidenţa malformaţiilor este de 0,59% la copiii ai căror mame au sub 25 de ani şi de 1,72% la copiii ai căror mame depăşesc vîrsta de 40 de ani. Cercetările efectuate de Penrose în Anglia şi de Turpin în Franţa au ajuns la concluzii similare.

Deşi în cele cîteva serii cercetate vîrsta mamei este semnificativ crescută, date teoretice sugerează că cele mai multe

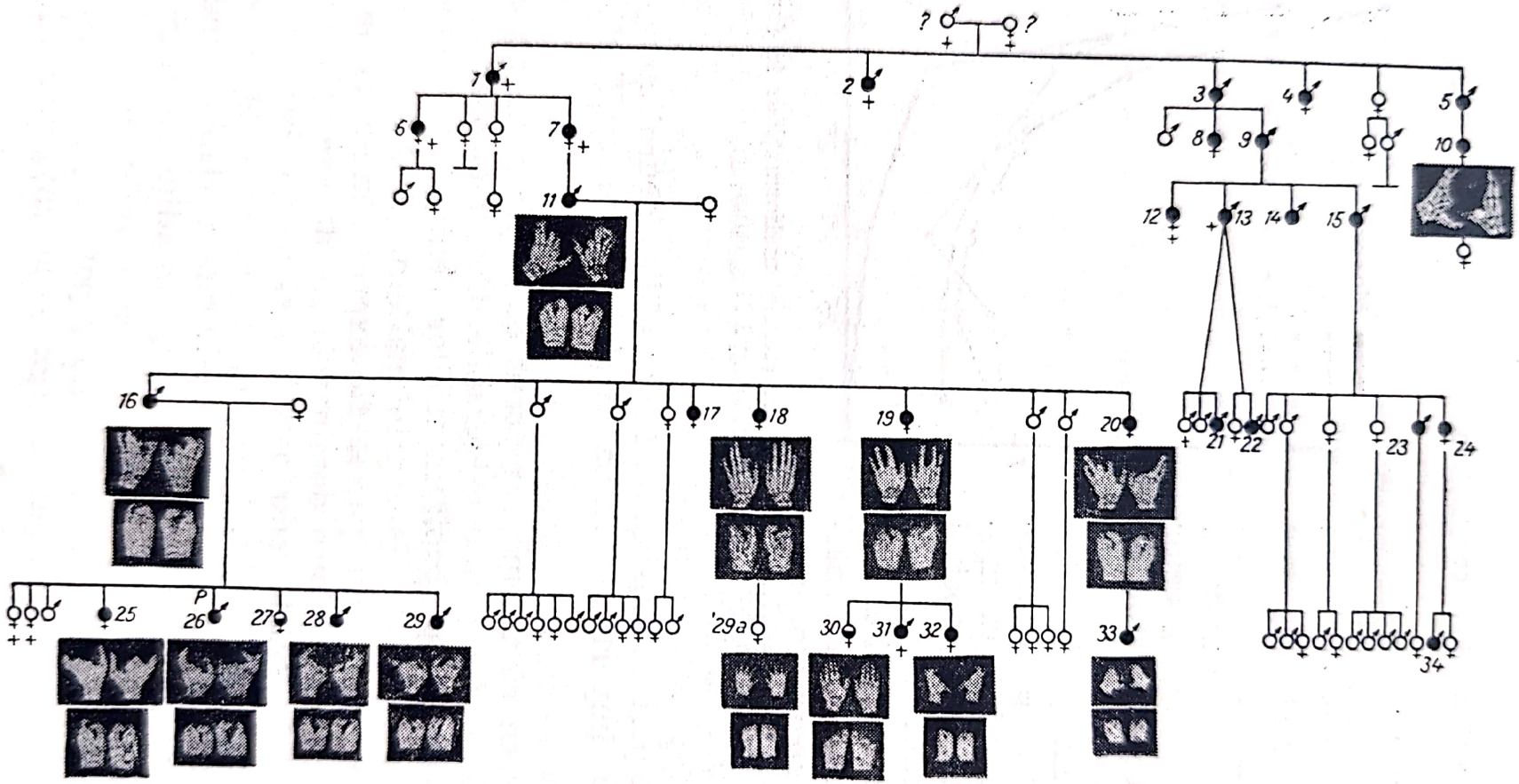
mutații apar totuși în cursul spermatogenezei. Femeile se nasc cu aproximativ 400 000—500 000 de oocite. Dintre acestea, numai 400 se vor matura. Ciclul de formare a celor cîteva sute de oogonii se limitează doar la 19 diviziuni dicotomice ale celulelor germinale primordiale. Apoi, pînă în momentul fecundației, oocitul de prim ordin dă naștere oocitului de ordinul al doilea și ovulului. La bărbați însă, spermatogeneza este un proces continuu, în cursul căruia erorile de diviziune sînt teoretic numeroase. Se pare că într-adevăr în hemofilie, neurofibromatoză și osteogeneza imperfectă vîrsta tatălui este semnificativ mai mare.



83. Creșterea malformațiilor în funcție de vîrstă (după Hegnauer)

Rămîne cert că un mare procent de malformații au origine ereditară. Lista lor este considerabilă. Cele mai multe malformații se datoresc probabil mutațiilor genice. Ele includ sindroame grave, caracterizate prin malformații multiple și mici anomalii dentare. Multe par să fie expresia mutației unei singure gene cu transmitere dominantă, ca, de exemplu, disostozele mandibulo-faciale, cranio-faciale și prognatismul. În același grup mai pot fi incluse luxația congenitală a coapsei, transmisă dominant, dar cu expresivitate variabilă, sindromul Marfan și maladia exostozantă. Malformațiile cu transmitere recesivă sînt numeroase. Dintre acestea amintim unele malformații ale membrelor, nanismele hipofizare și microcefalia. Malformațiile recesive legate de sex — absența incisivilor mediali și anodonția — sînt rare.

Scanned with OKEN Scanner



84. Pedigriul unei familii cu ectrodactilie

Scanned with OKEN Scanner

Se cunosc și boli care par să fie determinate de asocierea mai multor gene anormale — sindromul Lawrence-Moon-Biedl-Bardet.

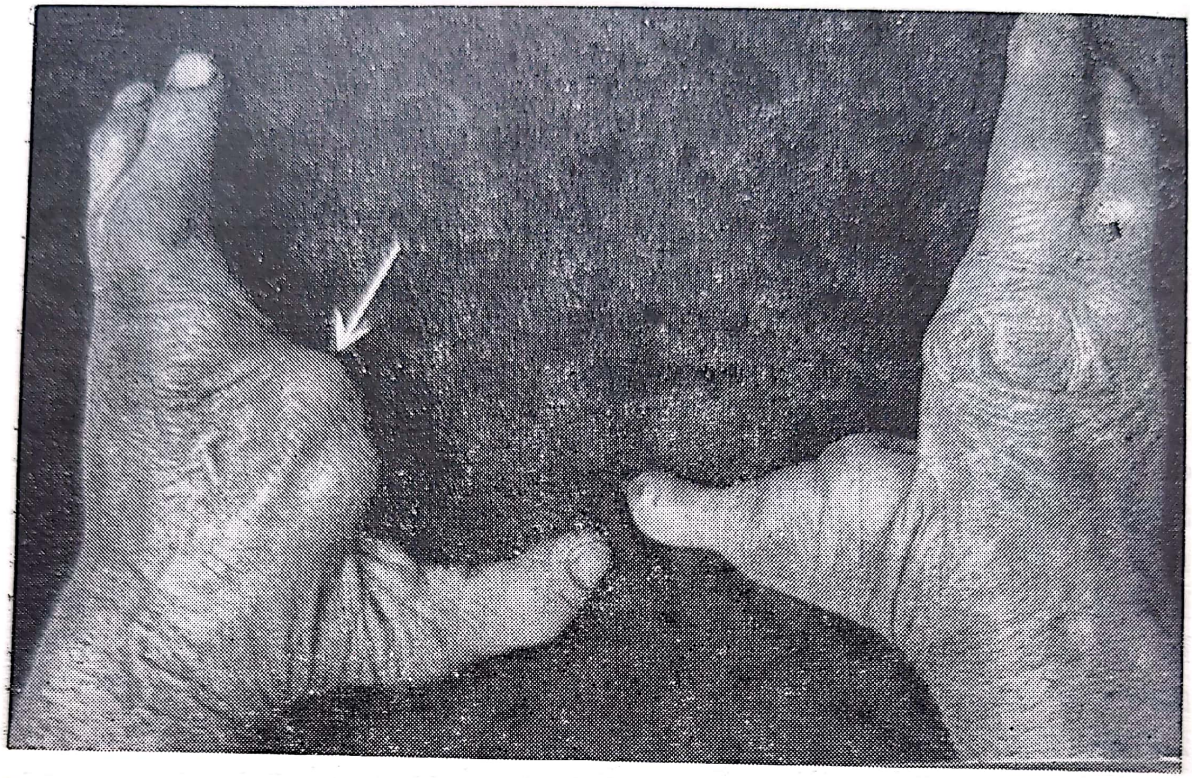
În realizarea polimorfismului malformațiilor intervin și factorii de mediu sau asocierea cu alte gene, fapt care explică probabil fenomenele care în genetică au fost numite penetranță și expresivitate.

Incidența familială a anomaliilor scheletice este un fenomen obișnuit în genetică. Deseori transmiterea dominantă a acestor anomalii poate fi urmărită pe mai multe generații. Este interesant de remarcat că uneori există doar o tendință familială la malformații osoase. De pildă, în unele familii sînt prezente la diverși membri fie polidactilia, fie sindactilia fie, în sfîrșit, absența degetului mijlociu. Uneori însă, unii dintre copiii rezultați din părinți afectați pot prezenta în același timp și sindactilie și polidactilie. Geneza acestei variabilități este necunoscută.

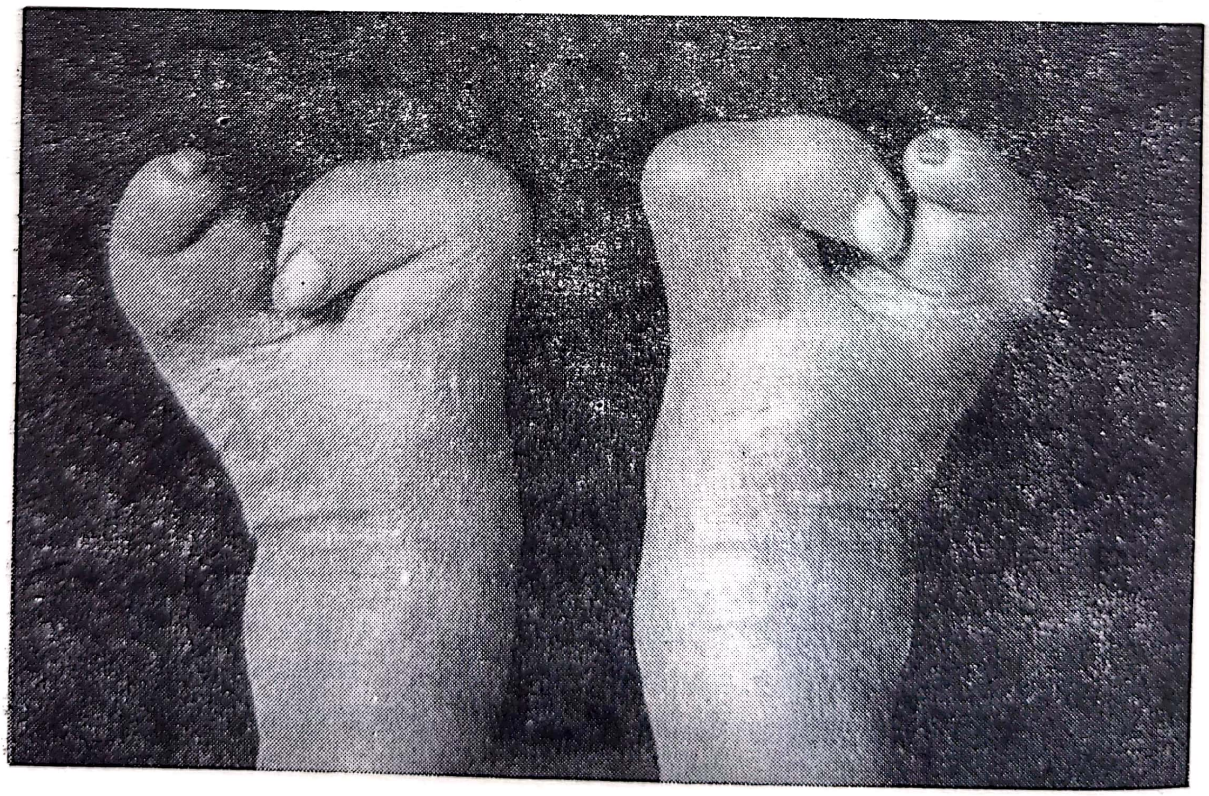
Sînt de asemenea ereditare encefalopatiile. Unele dintre ele, ca, de pildă, idioția amaurotică, boala lui Niemann-Pick, boala lui Gaucher sau leucodistrofiile, apar ca o consecință a unei enzimopatii. Trebuie reamintit însă că aceste boli sînt polimorfe genetic. În idioția amaurotică s-au diferențiat două forme: forma infantilă, cu evoluție rapidă, și forma juvenilă, care apare mai tîrziu și are o evoluție mai lentă. Ambele se transmit însă recesiv. Se cunosc și forme atipice, cu transmitere similară. Boala lui Gaucher include de asemenea două forme clinice și genetice. În multe erori înnăscute de metabolism (fenilketonuria sau galactozemia) encefalopatiile sînt un simptom constant.

Există malformații care pot fi determinate uneori predominent de mediu, alteori predominent de factori genetici. De pildă, Bickers a arătat că hidrocefalia este aproape întotdeauna generată de factori de mediu și numai în mod excepțional poate fi atribuită unei mutații care se transmite recesiv legat de sex.

Scanned with OKEN Scanner



85. Malformațiile caracteristice ale ectrodactiliei la unul din membrii familiei



Rolul malformativ al substanțelor chimice

Așa cum remarcam mai înainte, rolul substanțelor chimice în apariția malformațiilor a fost pus în evidență relativ tîrziu. În 1933, Halle a observat că scroafele care au avut în perioada de gestație o alimentație carențată în vitamina A nasc pui anoftalmici. Experiențele efectuate ulterior au impus concluzia că unele medicamente au efecte teratogene la animale.

Rolul substanțelor chimice în patologia umană a fost aproape ignorat pînă în ultimii ani, cînd tragediile provocate de *talidomidă* au reactualizat importanța teratogenă a medicamentelor. În 1958 s-a remarcat că în Germania frecvența unor malformații rare, ca absența brațelor, malformații ale femurului și tibiei, atreziile unor organe interne, a crescut brusc de la 3 la 100 000 de nașteri, la 5‰. S-a demonstrat ușor că copiii cu focomelie s-au născut din mame care au luat talidomidă între a 27-a și a 44-a zi de sarcină. Modul de acțiune al talidomidei este incert.

Deoarece talidomida este o substanță tranchilizantă, s-au studiat ulterior și eventualele consecințe teratogene ale celorlalte substanțe cu acțiune similară. Rezultatele au fost de cele mai multe ori negative. S-a remarcat însă că unele substanțe care acționează asupra sistemului nervos vegetativ au efecte teratogene, ca de exemplu neostigminul.

Importanța teratogenă a antibioticelor este incertă. S-au semnalat doar cîteva malformații osoase și dentare la copii născuți din mame tratate în timpul sarcinii cu tetraciclină. Streptomicina pare responsabilă doar de apariția sporadică a surdității la nou-născuți.

În condiții experimentale, sulfamidele au efecte teratogene certe. La om nu se cunosc încă asemenea consecințe. Sînt, de asemenea, teratogene substanțele citostatice întrebuințate în tratamentul tumorilor maligne. Grupa substanțelor antitumorale nu are acțiune specifică. Ele își manifestă efectul asupra tuturor celulelor cu diviziune rapidă. Ca atare, aceste substanțe acționează și asupra celulelor embrionare. Deosebit de periculoasă este aminopterina, o substanță întrebuințată ca abortiv. În cazul în care însă avortul nu se produce, copiii se nasc

Scanned with OKEN Scanner

frecvent cu malformaţii grave. Dintre celelalte medicamente folosite curent în clinică nici una nu s-a dovedit malformativă la om.

Factorii nutriţionali

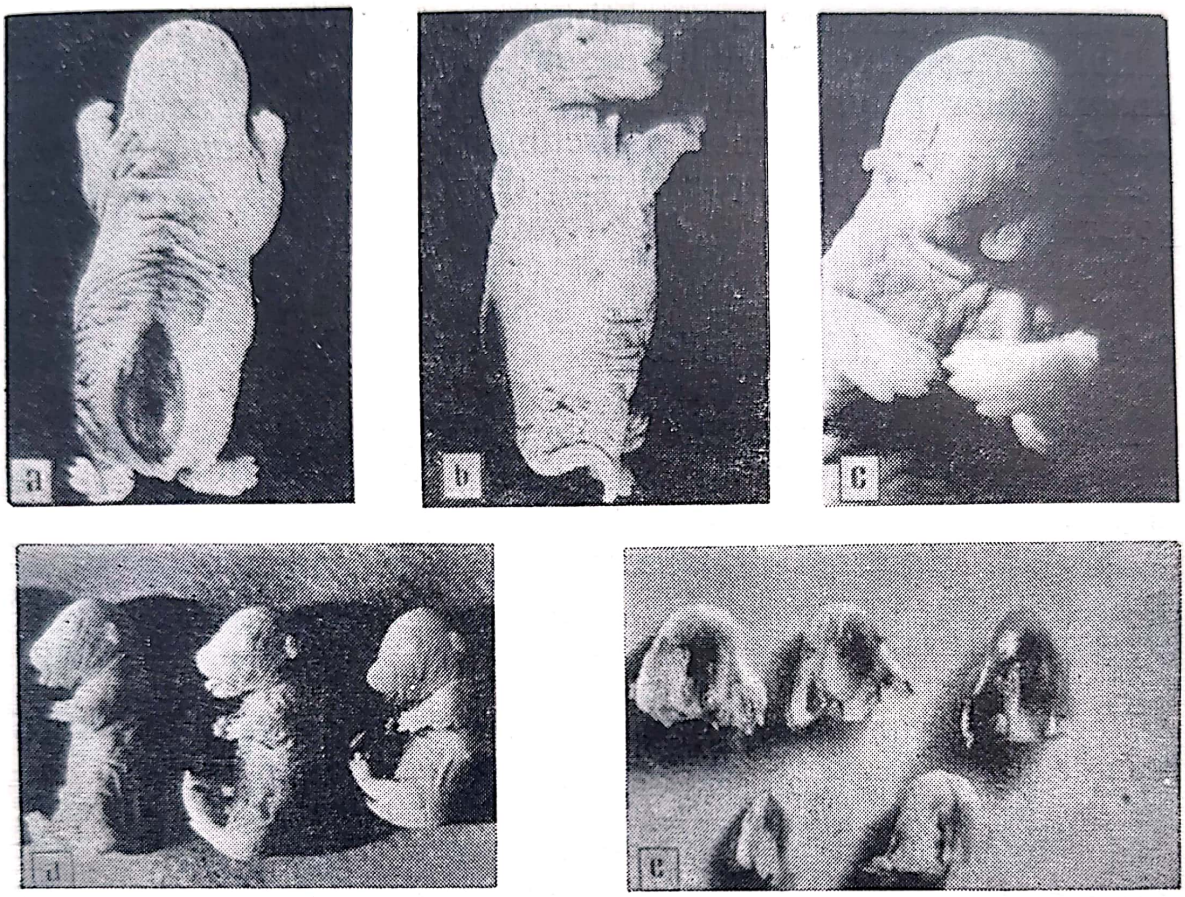
Importanţa alimentaţiei în dezvoltarea normală a embrionului este un fapt cunoscut de foarte multă vreme. Se ştie, de pildă, că femeile care în timpul sarcinii au tulburări digestive nasc relativ frecvent copii malformaţi. După Naujoks, printre mamele care au avut vărsături în timpul sarcinii incidenţa copiilor anormali este de patru ori mai mare decît printre mamele care au avut o evoluţie a sarcinii normală.

Mult mai concludente sînt însă cercetările efectuate în perioadele de accentuată carenţă alimentară. Astfel, în Germania, în timpul şi după cel de-al doilea război mondial, incidenţa malformaţiilor a crescut foarte mult faţă de perioada prebelică. Cercetările experimentale au arătat că efectele teratogene ale carenţelor alimentare se datoresc îndeosebi deficienţelor vitaminice. După toate probabilităţile, insuficienţa în glucide, lipide şi proteine nu are acţiune teratogenă. De asemenea, par lipsite de consecinţe malformative şi deficienţele minerale.

La rîndul lor, carenţele vitaminice nu sînt toate teratogene. Unele, ca acidul nicotinic, tiamina, acidul ascorbic, antrenează numai avortul sau o întîrziere de dezvoltare. De asemenea, nu sînt teratogene vitamina K, piridoxina, biotina şi vitamina D. Sînt teratogene, cel puţin în condiţii experimentale, vitamina A, acidul pantotenic, riboflavina şi acidul folic.

Astfel, la porc, lipsa vitaminei A antrenează numeroase malformaţii oculare (anoftalmie şi microftalmie), buză de iepure, anomalii ale urechilor etc. La şobolan s-au întîlnit malformaţii oculare şi anomalii ale tractului uro-genital, iar la om observaţiile sînt rare şi nu întotdeauna concludente.

Excesul de vitamină A are de asemenea efecte teratogene (Gonţea, 1964). După doze mari au apărut malformaţii la şoarece, şobolan, cobai şi iepure. Este important de subliniat că



86. Malformații diverse la șoareci născuți din femele care au primit un exces de vit.A:
a — Spina bifidă lombosacrată, agenezia urechilor și a cozii; *b*) — Agenezia pleoapelor și a urechilor, hipoplazia maxilarului inferior (micrognatie) cu procidența limbii și spina bifida lombosacrată; *c* — Cheiloschizis și gnatoschizis, agenezia urechilor și prezența de muguri (apendici) cervico-faciali; *d* — Sindactilii; *e* — Palatoschizis (după Gonțea și colab.)

s-au întîlnit malformații și la animalele care au primit doze foarte mici de vitamina A.

Carența în vitamina E la animale antrenează malformații variate (hidrocefalie, exencefalie, fantă palatină, sindactilii și hernii ombilicale).

Lipsa vitaminei B_2 are efecte grave. La șobolani s-au observat anomalii ale palatului și ale cozii. Galactoflavina — antivitamina B_2 — are aceleași urmări.

Lipsa de acid pantotenic provoacă eliminarea sarcinii sau — în caz că puii supraviețuiesc — malformații importante ale creierului, ochilor și ale tractului uro-genital. Lipsa de acid folic la șobolan antrenează anomalii cardiace și oculare.

Scanned with OKEN Scanner

Dar modul în care s-au obținut aceste malformații nu este întîlnit în condiții obișnuite aproape niciodată. Wilson nota că uneori chiar o alimentație foarte săracă în vitamine nu provoacă anomalii. În asemenea circumstanțe însă animalele devin sterile. Malformațiile apar numai dacă se adaugă și un antagonism specific.

Rolul teratogen al hormonilor

Rolul malformativ al hormonilor este cunoscut datorită unui mare număr de cercetări experimentale și de observații directe la om.

Hipofiza. Hormonii hipofizari nu par să aibă efecte teratogene asupra animalelor de experiență. Astfel, hormonul de creștere antrenează doar o prelungire a sarcinii, deci copii giganți.

Hormonul corticotrop (ACTH) determină la șoareci numai palatoschizis. Se pare însă că apariția anomaliei nu este determinată direct de ACTH, ci indirect de corticoizii materni.

Hormonul tireotrop nu este teratogen, după cum nu sînt teratogeni nici hormonii retrohipofizari. După datele cunoscute pînă în prezent se admite că doar extrasul total antehipofizar favorizează apariția palatoschizisului (Steiniger, 1940), dar numai la șoareci. La șobolan, extractul hipofizar anterior nu tulbură dezvoltarea embrionară. Hipofizectomia la specii cu totul diferite, ca șobolani sau maimuțe, nu tulbură evoluția normală a embrionului. Inconstant, la șoareci se nasc pui cu greutate mai mică, dar cauzele acestei diminuări ponderale rămîn necunoscute.

La om, puținele date strînse pînă acum sugerează că acromegalia sau gigantismul nu sînt teratogene. Abelove a remarcat că femeile cu tumori hipofizare nasc copii cu greutate și înălțime normală. De asemenea, femeile cu diabet insipid au descendenți normali.

Tiroida. Influența tulburărilor tiroidiene asupra dezvoltării embrionare a generat numeroase cercetări experimentale, numeroase studii în zonele cu gușă endemică, cît și cercetări asupra femeilor tireopate. Rezultatele sînt contradictorii. În

Scanned with OKEN Scanner

cercetările experimentale, rolul teratogen al hipertiroidiei nu este suficient de clar demonstrat. Administrarea de tiroxină înainte și în timpul sarcinii pare să determine la șoareci malformații oculare. Frecvența anomaliilor retiniene și ale cristalinului este direct proporțională cu doza de tiroxină administrată. La șobolan, ca și la șoarece, tiroxina determină îndeosebi anomalii oculare. Se pare că aceste malformații sînt condiționate de sensibilitatea genetică a animalelor. În cercetările noastre cu linia A_2G, tiroxina nu a provocat malformații. La rezultate asemănătoare au ajuns și Weiss și Noback.

La om, hipertiroidia maternă, atunci cînd este compatibilă cu sarcina, determină un mare număr de avorturi și de malformații congenitale. Parhon remarca încă din 1915 că mamele cu sindrom Basedow nasc frecvent copii cu malformații osoase, idioție, convulsii sau exoftalmie. Se atribuie tot hipertiroidismului matern și apariția copiilor cu hidrocefalie sau anencefalie.

Cercetînd diversitatea acestor malformații, devine seducătoare ipoteza că hipertiroidismul matern poate fi și un puternic agent mutagen. Unele anomalii scheletice, ca polidactilia sau sindactilia, ar fi rezultatul unei mutații. Dacă este adevărat că mamele hipertiroidiene nasc uneori copii cu sindrom Down, atunci hipertiroidia ar fi unul dintre factorii care favorizează apariția anomaliilor cromozomiale.

Se crede că și femeile care vor manifesta în anii următori hipertiroidism nasc un mare număr de copii cu malformații. De aceea, se afirmă că există o categorie de embriopatii prebasedowiene.

Anchetele efectuate în zonele endemice nu au reușit să demonstreze în mod convingător că malformațiile sînt semnificativ mai numeroase decît în zonele neendemice. Este adevărat că în unele cercetări efectuate în Elveția și în Germania, incidența malformațiilor era mai mare, dar investigațiile făcute în Finlanda și la noi, în Țara Loviștei, nu au putut confirma aceste concluzii. În Țara Loviștei malformațiile care apar printre copii sînt de obicei ereditare. Nu s-a remarcat nici o creștere semnificativă a malformațiilor printre copii morți curînd după naștere. Nu este exclus însă ca în unele dintre aceste

Scanned with OKEN Scanner

sate incidența malformațiilor să fie mai mare decît la restul populației. Fenomenul rămîne posibil, dar explicația este departe de a fi simplă. Nu poate fi eliminată ipoteza că în satele intens endogame apariția malformațiilor poate fi facilitată de consanguinitate.

Se pare însă că la femeile cu hipotiroidie frecvența avorturilor este mai mare. La animale de experiență, insuficiența tiroidiană maternă are efecte nocive evidente. Tiroidectomia maternă antrenează un mare procent de rezorbții embrionare și o frecvență crescută de malformații congenitale. Cu cît hipotiroidia este mai veche, cu atît mai numeroase sînt malformațiile embrionare.

Antitiroidienele de sinteză — tiouracilul și metiltiouracilul — nu au efecte cert teratogene. Ele produc doar numeroase avorturi și uneori (la șobolan) o reducere a greutății puilor (Milcu și Lupulescu, 1955). La om s-au citat cîteva cazuri de cretinism și sindrom Basedow la copii ai căror mame au primit tiouracil în timpul sarcinii.

Paratiroida. Există un număr foarte mic de observații cu privire la rolul teratogen al hormonului paratiroidian și la influența tulburărilor paratiroidiene ale mamei asupra embrionului. Astfel, tetania latentă a mamei pare să ducă frecvent la eliminarea sarcinii. Tscherne a studiat 24 de femei cu hipocalcemie și a constatat că marea majoritate aveau în antecedente unul sau mai multe avorturi spontane.

În condiții experimentale, insuficiența paratiroidiană produce o mare mortalitate infantilă. Dar asemenea experiențe nu sînt concludente, deoarece după paratiroidectomie apar tulburări grave, care influențează evident dezvoltarea embrionară.

Fără îndoială, avem prea puține date pentru a trage concluzii asupra importanței teratogene a tulburărilor paratiroidiene.

Corticosuprarenala. Numeroase experiențe au demonstrat că cortizonul este un factor teratogen deosebit de activ. Acțiunea lui malformativă variază de la specie la specie. Animalul prin excelență sensibil la cortizon este șoarecele. Așa cum remarcam mai înainte, femelele tratate cu acest hormon nasc frecvent pui cu palatoschizis. Fraser a observat că efectul teratogen maxim se obține atunci cînd cortizonul este administrat între

Scanned with OKEN Scanner

a 11-a și a 15-a zi de sarcină. Incidența fantei palatine depinde însă de linia de animale cu care se experimentează.

La iepuri, cortizonul determină numai avorturi și diminuări importante ale taliei puilor născuți vii. Șobolanul este relativ rezistent la cortizon. Numai rareori, după doze mari, se nasc pui cu anomalii ale tractului genital. Hidrocortizonul are acțiune similară cortizonului.

Insuficiența suprarenalei, în suprarenalectomiile experimentale, împiedică implantarea oului. Dacă suprarenalectomia a fost efectuată mai tîrziu, dezvoltarea sarcinii decurge aproape normal. La șobolan și hamster, suprarenalectomia maternă antrenează la pui multiple malformații, ca hidrocel, hematocel, eventrație abdominală, hernie ombilicală. Rolul teratogen al hormonilor corticosuprarenali la om este neclar. Guilbeau susține că a observat cîțiva copii malformați născuți din mame care au primit în timpul sarcinii cortizon. Afirmația lui n-a mai fost însă confirmată.

În boala lui Addison, dacă starea mamei permite evoluția embrionului, sarcina pare să decurgă normal.

Hormonii pancreasului. Se pare că în condiții experimentale insulina antrenează malformații numai la animalele sensibile genetic. Astfel, în cercetările lui Brinsemade numai un sfert din puii de iepuri ai căror mame au primit în timpul sarcinii insulină s-au născut cu malformații.

La om există cîteva indicații că insulina poate antrena anomalii ale embrionului. Sobel a observat că din 17 femei tratate cu insulină în timpul sarcinii, 4 au născut copii morți, iar 2, copii cu malformații. Pînă în prezent nu se știe dacă glucagonul are efecte teratogene.

Diabetul zaharat. De multă vreme s-a observat că mamele diabetice nasc frecvent copii anormali. Anomaliile cele mai comune sînt polidactilia și sindactilia, apoi malformații ale creierului, ale inimii, ale ochilor și ale arborelui urinar. Anomaliile cardiace sînt foarte frecvente. Printre copiii operați pentru anomalii cardiace, 31% (în seria lui Dowing, 1956) au unul dintre părinți sau bunici diabetic. Același fenomen a fost subliniat și de Kloos (1952).

De remarcat că mamele prediabetice nasc de asemenea copii malformați. S-a demonstrat pe un număr suficient de mare de

Scanned with OKEN Scanner

cazuri că dintre copiii viitoarelor diabetice 4% sînt anormali. La numărul de copii malformaţi se mai adaugă şi un mare număr de avorturi. După Barașev, 31% din sarcinile femeilor prediabetice sînt avortate.

Incidența copiilor malformaţi născuţi din mame diabetice este foarte mare, între 6 şi 25%. În general, se crede că 30% din malformaţiile congenitale neexplicate se datoresc diabetului sau prediabetului matern (Hoet, 1960). Mecanismul patogenic al malformaţiilor diabetice este încă necunoscut.

Primele cercetări experimentale cu substanţe antidiabetice au arătat că acestea au efect teratogen. Astfel, carbutamida antrenează malformaţii multiple la şobolan. În 1963, Tuchmann Duplessis obţine aceleaşi efecte la şoareci şi iepuri. La şobolan şi şoarece predomină anomaliile oculare. La iepure malformaţiile sînt mult mai variate (palatoschizis, scurtarea mandibulei, deformarea picioarelor etc.).

Rezultate similare s-au constatat şi la om. La femeile care au primit în timpul sarcinii dimetildiguanidină, frecvenţa avorturilor şi a mortalităţii neonatale atinge 18% (Sterne). Rezultatele nu sînt totuşi concludente, deoarece numărul observaţiilor este mult prea mic.

Hormonii şi intersexualitatea

Cazurile de intersexualitate sînt relativ numeroase. Etiologia acestor anomalii este însă incertă. Se pare că o mare parte din cazurile de hermafroditism şi de pseudohermafroditism masculin se datoresc aberaţiilor cromozomiale, iar restul, factorilor de mediu şi mutaţiilor genice. Este sigur că cel puţin 10% dintre pseudohermafroditismele masculine — aproape întotdeauna cu cariotip normal, XY, în concordanţă cu structura gonadelor — au caracter ereditar.

Hormonii intervin direct numai în geneza pseudohermafroditismului feminin. Acest tip de intersexualitate este aproape întotdeauna consecinţa administrării de hormoni progestativi sau androgeni, a tulburărilor endocrine materne şi a hiperplaziei congenitale a suprarenalei embrionare.

În condiţii experimentale, androgenii provoacă o accentuată masculinizare a tractului genital. Intensitatea malformaţiilor

Scanned with OKEN Scanner

depinde de stadiul de dezvoltare a embrionului și de doza administrată. Cu cît administrarea se face mai de timpuriu, cu atît masculinizarea este mai puternică. La puii masculi androgenii produc numai o dezvoltare precoce a structurilor genitale.

În clinica umană se cunosc numeroși intersexuați născuți din mame care au fost tratate în timpul sarcinii cu androgeni. Totuși, administrarea androgenilor nu determină constant fenomene de masculinizare.

Administrarea de hormoni progrestativi sintetici antrenează, ca și hormonii androgeni, masculinizarea tractului genital la șobolani și iepuri.

În patologia umană se cunosc numeroși copii cu fenomene de masculinizare născuți din mame care au primit în timpul sarcinii progesteron sintetic. Astfel, Wilkins citează șase femei care, în urma tratamentului, au născut fetițe cu hipertrofia clitorisului și cu fuziunea labiilor mari.

Importanța estrogenilor ca factor feminizant este incertă. Experimental, după estradiol femelele de șobolan nasc pui cu malformații ale organelor genitale externe. Aceleași anomalii au fost constatate și după administrarea de dietilstilbestrol. La șoarece, administrarea de estrogeni provoacă atrofia tractului genital și a testiculelor. Deseori testiculele sînt ectopice și degenerate. La malformațiile de tract se adaugă uneori și anomalii somatice — palatoschizis și absența pleoapelor.

Se pare totuși că efectele estrogenilor sînt influențate de specia animalului de experiență. La oposum, efectele estrogenilor sînt opuse efectelor observate la șobolan. La iepure și șoarece, administrarea estrogenilor antrenează o stimulare, la ambele sexe, a ductelor wolfiene (Moore, 1939).

La femei nu s-a putut demonstra cu certitudine efectul teratogen al estrogenilor. Într-o serie formată din 950 de femei diabetice însărcinate, tratate în timpul sarcinii cu estrogeni, nu s-a întîlnit nici un copil cu malformații. Ca atare, cele cîteva cazuri de masculinizare la fetele ale căror mame au primit estrogeni în timpul sarcinii rămîn nesemnificative. De altminteri, aceste mame au primit doze foarte mari de estrogeni, și anume 5—10 mg pe zi începînd din săptămîna a 7-a, pînă în săptămîna a 25-a (Bongiovanni, 1959). Parhon consideră că

Scanned with OKEN Scanner

aceste cazuri rare ar putea fi consecința tulburării axei hipofizoovariene și nu o consecință directă a estrogenilor.

Epifiza. Se pare că extractele epifizare n-au efecte teratogene la șobolani și șoareci. În cercetările noastre efectuate pe mai multe serii de șoareci din linia A_2G, extractul epifizar s-a dovedit inofensiv pentru embrion. În cercetările lui Parhon asupra găinilor s-a observat că dozele mari de extract hipofizar sînt toxice, antrenînd o mortalitate foarte crescută. În doze mai mici însă pare să aibă chiar efecte favorabile.

Extractul timic și timectomia nu sînt teratogene la mamifere.

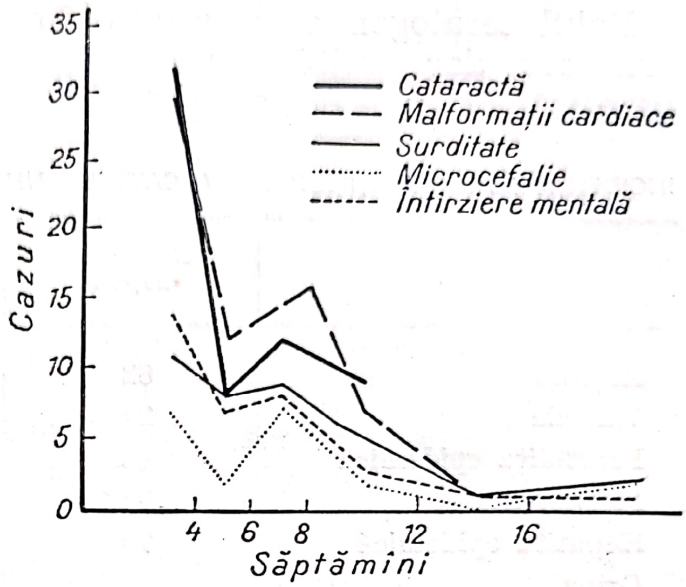
Rolul protector al hormonilor. Experiențele citate în cadrul acestei sinteze au arătat că foarte mulți hormoni sînt — cel puțin în condiții experimentale — teratogeni. O serie de cercetări noi au demonstrat și alte aspecte deosebit de importante, ca de pildă, rolul protector al hormonilor.

În 1960, Woolam și Millen au arătat că tiroxina administrată femelelor însărcinate din linia de șoareci Strong A — linie la care buza de iepure apare spontan în aproximativ 10% din animale — reduce puternic incidența anomaliei. Pornind de la această observație, Woolam și Millen emit ipoteza seducătoare că valorile tiroxinei circulante sînt unul dintre factorii care permit unei gene să-și manifeste sau nu acțiunea teratogenă. În experiențele efectuate de acești autori pe șobolani s-au obținut, cu ajutorul vitaminei A, un mare număr de descendenți cu exencefalie (7,8%) și palatoschizis (29,8%). Dacă se administrează femelelor 3 unități de insulină între a 9-a și a 12-a zi de sarcină, frecvența exencefaliei crește la descendenți pînă la 51,8%, în timp ce fanta palatină dispare. Dacă se administrează o unitate de protaminzincinsulină între a 8-a și a 13-a zi de sarcină, incidența exencefaliei scade la mai mult de jumătate (24%). Ca și în cercetarea precedentă, palatoschizisul lipsește. Cercetările lui Woolam și Millen au deschis o cale fecundă de cercetare în embriologie și poate au găsit un mijloc eficient de profilaxie a malformațiilor.

Rolul teratogen al infecțiilor a fost evidențiat în 1941, cînd Gregg a observat că femeile care se îmbolnăvesc de rubeolă în timpul sarcinii nasc copii malformați. Numeroase cercetări efectuate ulterior au confirmat aceste observații.

Scanned with OKEN Scanner

87. Variațiile malformațiilor congenitale provocate de rubeolă în diverse stadii ale gestației (după Dekaban)



Incidența malformațiilor depinde de gradul de dezvoltare a embrionului. Dacă mama contractează infecția în primul trimestru de sarcină, incidența malformațiilor printre descendenți este de 12%. Cînd infecția survine în trimestrul următor, incidența scade la 3,8%, pentru ca în ultimul trimestru să dispară cu totul. Scade de asemenea și numărul avorturilor: 7,2% în primul trimestru, 4,6% în al doilea și 1,7% în al treilea.

Malformațiile rubeolice sînt variate. Dacă infecția are loc în primele săptămîni de sarcină, cele mai frecvente malformații sînt cataractele. Se întîlnesc mai rar microoftalmii, disgenezii iriene, coroidite pigmentare etc. Frecvent apar și tulburări acustice, surditate și semisurditate, malformații dentare, cardiace și microcefalie. Perioada cea mai importantă pentru embrion este săptămîna a 4-a. După săptămîna a 13-a consecințele teratogene sînt limitate.

VIRSTA SARCINII IN SAPTAMINI

Defect	0—4	5—8	9—12	13—16
Defecte cardiace	8,9%	9,8%	3,9%	1,4%
Defecte oculare	8,9%	3,8%	5,2%	—
Surditate	11,8%	20,8%	21,0%	12,1%

Scanned with OKEN Scanner

Rolul teratogen al celorlalte infecţii virale este mai puţin cunoscut, dar posibil. După Bickenbach, cea mai importantă pare să fie parotidita epidemică.

INCIDENŢA MALFORMAŢIILOR PROVOCATE DE UNELE BOLI VIROTICE

Boala	Număr de naşteri	Malformaţii congenitale	
		număr	%
Rujeola	62	10	16,1
Varicela	24	3	12,5
Parotidita epidemică	98	22	22,5
Poliomielita	104	3	2,9
Hepatita epidemică	70	8	4,6
Gripa	160	4	6,6
Total	518	50	9,6

Tulburările pe care le antrenează aceste infecţii sînt variate. Rujeola şi parotidita epidemică duc frecvent la pierderea sarcinii. Femeile care au contractat parotidită epidemică în timpul sarcinii nasc copii cu microftalmie şi hidrocefalie. Observaţii contradictorii sau insuficiente au semnalat efectele teratogene ale poliomielitei şi ale gripei.

Infecţiile microbiene materne nu par să împiedice evoluţia embrionului. După Turpin, afirmaţia este valabilă şi pentru sifilis, a cărei acţiune malformativă a fost mai curînd invocată decît demonstrată. Sifilisul nu determină decît cîteva anomalii scheletice. Par mult mai importante efectele toxoplasmozei. Experimental, la puii născuţi din femele infectate s-au întîlnit microcefalii, hidrocefalii şi anomalii oculare. La om consecinţele teratogene ale infecţiei bacteriene nu sînt suficient de clare.

Alţi factori teratogeni

În condiţii experimentale, hipoxia are acţiune teratogenă. La om faptele sînt mai puţin bine conturate. S-a presupus, de pildă, că hipoxia şi surplusul de radiaţii naturale provoacă mal-

formațiile congenitale întîlnite la populațiile din Nepal. De asemenea, s-a presupus că sterilitatea conchistadorilor care ocupau regiunile înalte ale Cordilierilor era o consecință a apariției malformațiilor letale embrionare. Ipoteza nu a putut fi susținută, deoarece autohtonii se reproduceau normal. Mai reprezentative ar fi observațiile lui Wesley, care a remarcat că malformațiile letale variază cu altitudinea, atingînd minimum de frecvență la 0° și maximum de frecvență la 50°. Cauzele acestui fenomen nu sînt cunoscute. Statisticile arată că frecvența malformațiilor variază după sezon. De pildă, Record afirmă că luxația congenitală de șold este de două ori mai frecventă la copiii născuți iarna, decît la cei născuți în celelalte anotimpuri.

Studiul comparativ al malformațiilor congenitale a subliniat încă o dată rolul hotărîtor al eredității în patologie. În același timp a arătat că embrionul este deosebit de sensibil la acțiunea factorilor de mediu. Malformațiile sînt rezultatul interacțiunii celor doi factori. Chiar în tulburările ereditare, manifestarea unei gene patologice este influențată de factorii de mediu. Astfel, la iepure se cunoaște o mutație care suprimă apariția incisivilor laterali superiori. Uneori, sub influența condițiilor mezologice anomalia apare doar unilateral. De asemenea, apariția polidactiliei este influențată de vîrsta mamei. Femelele imature dintr-o sușe anormală nasc mai frecvent pui cu degete supranumerare decît femelele mature.

Seria observațiilor de acest gen este foarte mare. Toate vin să demonstreze principiul fundamental că orice caracter implică cu necesitate o anumită structură genetică și anumite condiții de mediu.

BIBLIOGRAFIE

Baxter, H., F. C. Fraser, „Mc. Gill. N. Y.", 19, 1950, 245.
Bickers, D. S., R. D. Adams, „Brain", 72, 1949, 246.
Bongiovanni, A. M., A. M. Di George, M. M. Grumbach, „J. Clin. Endocr. Metab.", 19, 8, 1959, 1004.

Scanned with OKEN Scanner

Brindsmade, A. B., F. Büchner, H. Rübsaamen, „Naturwisch", 43, 1956, 259.

Cajal, N., M. Leonescu, „Viața Med.", 19, 1964, 1285.

Dantschakoff, V., *Le sexe — rôle de l'hérédité et des hormones dans sa réalisation*, Presse Univ. France, Paris, 1949.

Dowing, D. F., H. Goldberg, „Dis. Chest.", 29, 475, 1956, 507.

Fave, A., „Thérapie', XIX, 43, 1964, 164.

Fraser, F. C., H. Kalter, B. E. Walker, T. D. Fainstat, „J. Cell. and Comp. Physiol.", 43, supl., 1954, 237.

Fraser, F. C., „Acta genet.", 1955, 5, Basel, 358.

Gillman, J., C. Gilbert, T. Gillman, I. Spence, „South African J. Med. Sci.", 1948.

Gonțea, I., P. Suțescu, D. Cocora, P. Staicu, „Viața Med.", 19, 1964, 1315.

Gregg, N. M., „Trans. Ophthal. Soc. Austral.", 4, 1944, 119.

Hale, E., „J. Hered.", 24, 1933, 105, 8.

Haskin, D., „Anat. Rec.", 102, 1948, 493.

Hippel, E., „Med. Wschr.", 54, 1907, 452.

Hoet, J. J., A. Gommers, J. P. Hoet, „The third Congress of Intern.". Diabetes Feder, Düsseldorf, 1958.

Hoet, J. P., A. Gommers, J. J. Hoet, „Ciba Found Symp. on Congenit. Malf.", 1960, 219.

Kloos, K., „Wirchow Arch. Path. Anat.", 321, 1952, 177.

Lamy, M., J. Frezal, J. Rey, „Ann. Péd.", 70/12, 1961, 556.

Maximilian, C., D. Ioanițiu, I. Iliescu, „Viața Med.", 19, 1964, 1301.

Mc Intoch, R., K. K. Marritt, M. R. Richards, M. H. Samuels, M. T. Bellows, „Pediatrics", 13, 1954, 505.

Menkes, B., S. Sandor, M. Deleanu, S. Elias, „Viața Med.", 19, 1964, 1265.

Milcu, St. M., A. Lupulescu, „Stud. cercet. endocr.", VI, 3—4

Milcu, St. M., C. Maximilian, „Viața med.", 19, 1964, 1277. 1955, 415.

Moore, C. R., „Proc. Soc. Exper. Biol. Med.", 40, 1939, 544.

Parhon, C. I., M. Bălăceanu, N. Albu, *Endocrinologie embrionară*, Ed. Acad. R.P.R., București, 1960.

Scanned with OKEN Scanner

18

Genetica medicală

Bolile ereditare ocupă un loc important în peisajul atît de bogat și de variat al patologiei umane. Dacă plecăm de la premisa că la fiecare 10 000 de indivizi apare o boală ereditară specifică și că se cunosc cel puțin 500 de boli ereditare importante, atunci nu ne va surprinde faptul că din 20 de persoane una va prezenta o tulburare oarecare de origine genetică. Numeroase studii au confirmat existența acestui fenomen.

Cercetarea întreprinsă în 1961 de Stevenson în Irlanda de nord a arătat că 4% din copii suferă sau vor suferi cîndva în cursul vieții de o tulburare de origine ereditară. În această cifră nu sînt incluse decît bolile cert ereditare. Dacă acestora li s-ar adăuga și tulburările în geneza cărora ereditatea joacă neîndoielnic un rol important, ca diabetul și schizofrenia, atunci frecvența lor ar fi mult mai mare.

Oricum, cel puțin 5,1% dintre nou-născuți vor suferi, mai mult sau mai puțin, consecințele unei boli ereditare.

Boala	Frecvența la 1 000 de nașteri
Malformații cu etiologie complexă (genetică sau de mediu)	20
Malformații datorite unei singure mutații	5
Aberații cromozomiale	4
Boli determinate de o singură mutație	8
Eritroblastoză	4
Boli comune cu componente genetice în etiologie	10
Total	51

De asemenea, Stevenson a observat că minimum 25% dintre paturile de spital sînt ocupate de persoane cu boli genetice și că 6% din consultații sînt solicitate de indivizi care își dato-

resc tulburările clinice unei anomalii ereditare. Valorile — deși aparent foarte mari — în realitate sînt probabil și mai semnificative.

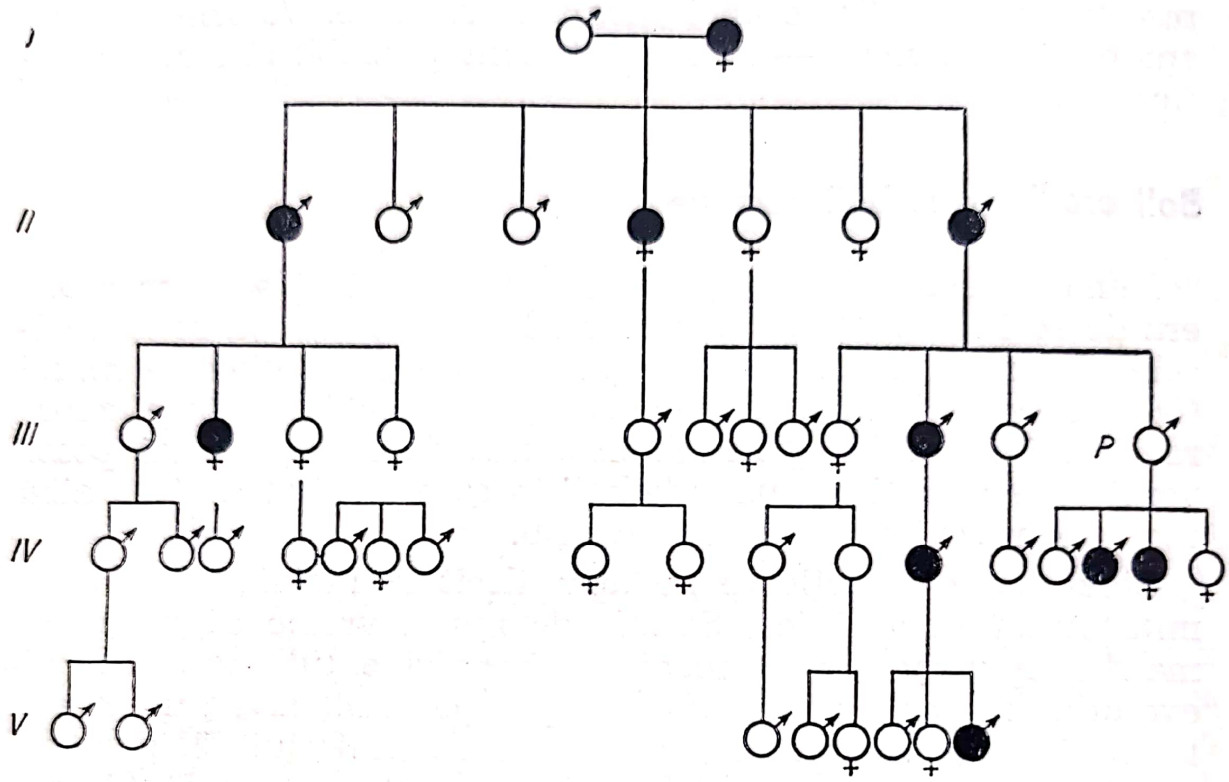
Boli ereditare și boli comune

Numeroase cercetări au stabilit că multe boli a căror cauză era deseori ignorată sînt ereditare. În această grupă intră varicele și ulcerul. Altă mare grupă recunoaște o etiologie mixtă (factori genetici și factori de mediu), ca, de pildă, diabetul zaharat. Dacă domeniul geneticii este atît de mare se mai poate vorbi oare de boli comune, de boli în care ereditatea să nu aibă nici un rol? Fără îndoială că nu.

Chiar bolile infecţioase nu apar decît la indivizi cu o anumită structură genetică. Se știe de multă vreme că în cursul marilor epidemii unii oameni nu fac nici o tulburare, sau că evoluția unei boli infecţioase are aproape întotdeauna un caracter individual. Această variabilitate i-a permis lui Cl. Bernard să afirme că „boala nu este nimic, terenul este totul". „Terenul" a căpătat acum o explicaţie ştiinţifică care îl scoate din domeniul ipotezelor. El reprezintă însăși constituţia genetică. Fiecare individ are o structură biochimică determinată de o structură genetică proprie lui. Prin mecanismele de apărare pe care le condiţionează, această bază ereditară influenţează apariţia sau evoluţia unei infecţii. Fenomenul este larg cunoscut în genetica animală. S-au descris suşe de iepuri rezistente la mixomatoză sau la tifoidă. S-au citat de asemenea linii de iepuri rezistente la febra galbenă. S-a arătat apoi că apariţia leprei la om este condiţionată de o genă dominantă cu penetranţă de 3/5. Astfel, trei din cinci purtători ai acestei mutaţii vor face boala, cu condiţia să trăiască pînă la 80 de ani și să fi fost infectaţi cu bacil Hansen.

În mod obișnuit însă, sfera noţiunii de boală ereditară este relativ restrînsă. Ea se limitează la tulburări care se datoresc prevalent modificării bazei ereditare. Ca atare, recunoașterea unei boli ereditare se sprijină pe o serie de criterii obiective. Boala are frecvent un caracter familial. Ca atare, ea afectează mai mulţi membri ai unei familii, fie succesiv de-a lungul mai

Scanned with OKEN Scanner



88. Pedigriu cu transmitere dominantă a polidactiliei

multor generații, fie exclusiv o singură generație. Dacă boala este determinată de o genă recesivă rară, numărul căsătoriilor consanguine este mai mare printre părinții persoanelor afectate decît la restul populației. De obicei, la gemenii monozigoți tulburarea este mai frecvent concordantă decît la gemenii dizigoți. Anomalia se transmite în concordanță cu legile genetice. Un argument puternic în sprijinul originii ereditare a unei boli îl constituie existența aceleiași tulburări și la alte animale. Firește, aceasta nu este o condiție obligatorie, deoarece multe tulburări sînt ereditare și totuși nu se întîlnesc decît la om.

Fiecare din aceste afirmații trebuie verificată de un număr suficient de mare de observații, altfel există riscul ca repetarea condițiilor mezologice particulare să ducă la apariția familială a unei tulburări oarecare. Evident, în aceste circumstanțe — deși o tulburare are caracter familial — ea nu este ereditară.

O dată apărută, boala tinde să reapară în cadrul aceleiași familii în aceeași etapă a dezvoltării ontogenetice. Fenomenul

poartă numele de homocronie. Subliniem cu această ocazie că atunci cînd se vorbește de transmiterea unei boli nu trebuie să se înțeleagă transmiterea bolii ca atare, ci doar transmiterea genei și, o dată cu aceasta, a unei anumite norme de reacție. Boala va apărea sau nu în funcție de condițiile de mediu intern și extern.

Cauzele bolilor ereditare

În prezent se știe că mutațiile din celulele germinale sînt singura cauză a bolilor ereditare. O dată apărute, ele se transmit celulelor-fiice și apoi, prin fecundație, generației următoare. La rîndul ei, fiecare generație își adaugă propriile ei mutații.

Cauzele mutațiilor la om sînt numeroase și pot fi considerate ca o expresie a diversității condițiilor de mediu în care aceasta s-a dezvoltat. Totuși, numărul cauzelor cunoscute din genetica experimentală și din observația directă este surprinzător de mic. Cei mai importanți factori mutageni sînt radiațiile naturale, la care se adaugă acum radiațiile artificiale (vezi capitolul Radiogenetica).

Al doilea factor mutagen important par să fie tulburările metabolismului celular. Aceste tulburări determină fie erori în duplicarea acizilor nucleici, fie erori în copierea mesajului genetic. Cu vîrsta, numărul tulburărilor, și implicit numărul mutațiilor, crește. Faptul a fost demonstrat de studiile făcute asupra părinților care au născut copii cu malformații de origine genetică. În unele boli, ca cele alăturate, este semnificativ mai mare vîrsta tatălui.

Boala	Vîrsta medie a tatălui la nașterea copilului afectat față de media taților cu copii normali	Autorul și anul
Condrodistrofie	+ 5,4 ani	Mørch, 1941
Condrodistrofie	+ 4,3 ani	Brebe, 1955
Arachnodactilie	+ 4,9 ani	Lynas, 1958
Acrocefalosindactilie	+ 5,3 ani	Blank, 1960

Scanned with OKEN Scanner

Vîrsta mamei este crescută îndeosebi în cazul copiilor cu sindrom Down.

Alți factori mutageni nu se cunosc pînă în prezent. Se presupune că expunerea gonadelor la căldură sau la diferite substanțe chimice ar antrena, de asemenea, apariția de mutații.

Frecvența mutațiilor

Teoretic toate genele pot suferi mutații și ca atare toate ar putea fi detectate. În practică însă, numărul mutațiilor cunoscute este relativ mic. S-au identificat pînă acum cel puțin 1000 de boli ereditare. Numărul lor este cu siguranță mult mai mare, dar deseori noile boli apar în regiuni unde asistența medicală este redusă sau scapă medicilor cu o insuficientă pregătire genetică. Oricum, pentru medicină sînt importante doar 200—300 de boli de origine ereditară, ceea ce ne permite să presupunem că nu toate genele suferă la fel de ușor mutații.

Rata de mutații spontane rămîne încă foarte greu de stabilit chiar pentru bolile determinate de mutații dominante sau recesive legate de sex. Cauzele sînt multiple: imposibilitatea de a aduna toate cazurile, greutatea de a pune un diagnostic corect, heterogeneitatea genetică a aceleiași tulburări clinice, deosebirile sociale din diferitele părți ale lumii. Aceste neajunsuri sînt valabile și pentru cazurile în care s-a cercetat rata de mutație. Astfel, Stevenson remarca că surdomutitatea este determinată de mai multe gene dominante și recesive. Cercetarea acestei boli la șoareci — unde există o situație analogă — nu a reușit să diferențieze tulburări anatomice specifice pentru una sau alta dintre genele mutante. Aprecierea ratei de mutație devine și mai dificilă dacă se consideră că un sfert din cazurile de surdomutitate sînt fenocopii.

În acondroplazie, unde determinarea ratei de mutație pare simplă, s-au ivit, de asemenea, cel puțin trei sau patru obiecții majore: acondroplazia nou-născutului este diferită de acondroplazia adultului; se cunosc cîteva cupluri consanguine indemne care au născut copii afectați (deci ar putea să existe și o mutație recesivă); diagnosticul diferențial cu boala Morquio este uneori extrem de greu de făcut. În sfîrșit, metoda directă nu

poate fi folosită în toate cazurile. În Irlanda de nord se cunoaște un singur acondroplazic care a avut copii, în timp ce în Danemarca s-au descoperit opt asemenea cazuri.

Valorile stabilite au astfel un caracter cu totul relativ. Teoretic se consideră că rata de mutație pentru cele mai multe gene oscilează între $4 \cdot 10^{-6}$ și $95 \cdot 10^{-6}$. Frecvențele medii sînt însă de $1 \cdot 10^{-4}$ și $1 \cdot 10^{-6}$. Se remarcă astfel că există gene cu o rată de mutație mare și gene cu o rată de mutație foarte mică.

Rata de mutație a fost calculată pentru un număr relativ mic de gene. Așa cum s-a arătat, prin rata de mutație se înțelege frecvența mutațiilor pe un locus specific, pe gamet și pe generație. Estimarea ratei depinde de trei factori: de incidența caracterului determinat de mutație în populație; de modul de transmitere a mutației și de gradul de fertilitate a purtătorilor (*fitness*).

În funcție de acești parametri, rata de mutație poate fi calculată prin metoda directă sau indirectă (vezi capitolul Metode de cercetare în genetică).

RATA DE MUTAȚIE PENTRU BOLI DOMINANTE ȘI RECESIVE (DUPĂ VOGEL ȘI PENROSE, 1961)

Boala	Regiunea	Rata de mutații pentru 1 milion de locusuri pe generație	Autorul
Mutații dominante			
Acrocefalosindactilie	Anglia	3	Blank, 1960
Aniridie	Danemarca	5(2,9)	Mollenbach, 1947, corijată de Penrose, 1956
	S.U.A. (Michigam)	2,6	Shaw, 1960

Boala	Regiunea	Rata de mutații pentru 1 milion de locusuri pe generație	Autorul
Condrodistrofie	Suedia	70	Bőők, 1952
	Danemarca	45(10)	Mørch, 1941, revăzută de Slatis, 1955
	Irlanda de nord	13	Stevenson, 1956
Coreea Huntington	S.U.A.	5	Reed-Neel, 1959
Distrofie miotonică	Irlanda de nord	8	Lynas, 1957
	Elveția	16	Klein, 1958
Epiloie	Anglia	8	Gunther-Penrose, 1935
Sindromul Marfan	Irlanda de nord	4,2—5,8	Lynas, 1958
Neurofibromatoză	S.U.A. (Michigam)	100	Crowe-Schull, Neel, 1956
Polipoză intestinală	S.U.A.	13	Reed-Neel, 1955
Retinoblastom	Anglia	15	Philip-Sorsby, 1947
	S.U.A.	23	Neel-Falls, 1951
	R.F. Germană	4	Vogel, 1954
Rinichi polichistic	Danemarca	65—120	Dalgaard, 1957
Mutații recesive legate de sex			
Hemofilie	Anglia	20	Haldane, 1935
	Danemarca	32	Andreasen, 1943
	Elveția	22	Vogel, 1955
	S.U.A. (Utah)	95	Stephens Tyler, 1951

Boala	Regiunea	Rata de mutații pentru 1 milion de locusuri pe generație	Autorul
Distrofie musculară progresivă	Irlanda de nord	60	Stevenson, 1958
	S.U.A.	95	Stephens Tyler, 1951
	Anglia	43	Walton, 1955
	Germania de sud	48	Becker Lenz, 1955, 1956
Recesive			
Albinism	Japonia	28	Neel, 1949
Amiotonie congenitală	Suedia	20	Bőők, 1952
Daltonism	Japonia	28	Neel, 1949
Fenilketonuria	Anglia	25	Penrose, 1956
Ichtioză congenitală	Japonia	11	Neel, 1949
Idioție amaurotică infantilă	Japonia	11	Neel, 1949
Idioție amaurotică juvenilă	Suedia	38	Haldane, 1939
Microcefalie	Japonia	49	Komay, 1955

Mutaţiile genice provoacă o serie de anomalii enzimatice cu consecinţe multiple. Aceste anomalii constituie erori înnăscute de metabolism. Numărul lor este foarte mare. În 1908, cînd au fost descrise de Garrod, se cunoșteau numai cinci. Acum sînt cîteva zeci și numărul lor este în continuă creștere. Cele mai multe boli endocrine au fost incluse în acest grup.

Un număr de boli endocrine sînt de fapt boli moleculare. Bolile metabolismului ocupă acum un loc deosebit de important în patologia umană și în viitor vor fi, așa cum afirma Lamy, din ce în ce mai numeroase.

La rîndul lor, bolile moleculare au fost împărţite în două grupe mari: boli moleculare propriu-zise și enzimopatii.

Scanned with OKEN Scanner

Bolile moleculare propriu-zise, așa cum au fost definite de Pauling, sînt determinate de modificarea unei molecule neenzimatice. Deseori toate consecințele lor clinice derivă din înlocuirea unui aminoacid cu altul. Cele mai cunoscute boli moleculare sînt hemoglobinopatiile. În anemia cu celule falciforme tabloul biochimic se caracterizează doar prin înlocuirea acidului glutamic cu valina. În hemoglobina C același aminoacid este înlocuit de lizină. Numărul hemoglobinopatiilor este foarte mare și foarte binecunoscut. Se pare că nici una dintre bolile endocrine nu intră în această grupă.

În grupa bolilor moleculare enzimopatice se pot individualiza, după De Toni, cel puțin patru variante:

1. Datorită unui blocaj, sinteza produsului final încetează. Fenomenele clinice sînt consecutive acumulării de precursori. Este cazul bolii lui Tay-Sachs sau al fenilketonuriei.

2. Tulburările clinice sînt consecința directă a absenței produsului final. Exemplul cel mai concludent îl constituie cretinismul sporadic cu gușă. Cercetările de biochimie au demonstrat că blocajul poate avea loc la nivele diferite ale hormonogenezei tiroidiene. Astfel, în absența oxidazei, iodul anorganic nu mai trece în iod organic. În lipsa deiodinazei nu se mai produce deiodarea tiroxinelor, iar în absența unei ipotetice enzime nu mai are loc cuplarea tirozinelor în tironine. Manifestările clinice sînt identice.

3. Sindroame moleculare prin defecte în resorbția intestinală. În rahitismul rezistent la vitamina D, de exemplu, absorbția intestinală a calciului este deficientă. Se pare că în această grupă nu intră nici o endocrinopatie. Numai într-un singur caz de cretinism, Stanbury a citat incapacitatea mucoasei gastrice a copilului de a absorbi iodul. Este un defect generalizat, deoarece nici tiroida nu absorbea iod.

4. Sindroame moleculare datorite unei tulburări în rezorbția tubulară renală. Se presupune că această rezorbție se află sub dependența unui număr relativ mare de gene, fiecare condiționînd rezorbția specifică a unei substanțe. Diabetul insipid nefrogen, de pildă, se datorește unei asemenea tulburări.

Firește, nu este exclus ca mecanismul patogenic să fie mult mai complex, așa cum se întîmplă și în alte boli moleculare. De asemenea, nu este exclus ca un defect în sinteza unui hor-

Scanned with OKEN Scanner

mon să se asocieze cu o tulburare de absorbție intestinală, sau ca la același individ să coexiste mai multe anomalii enzimatice. Așa se întîmplă uneori în cretinism, unde în sinteza hormonilor tiroidieni pot exista două anomalii, în două etape distincte. În alte cazuri, tulburarea pusă în evidență într-un organ poate să fie doar reflectarea la distanță a unei tulburări care are loc în alt organ. În diabetul insipid hipofizar, tulburarea se găsește în celulele din hipotalamus și hipofiză. Acești centri însă controlează prin intermediul unui hormon retrohipofizar rezorbția apei la nivelul tubului renal.

De asemenea, este posibil ca tulburările atribuite carenței unui hormon să fie în realitate determinate de lipsa de răspuns periferic. Se presupune astfel că hipoparatiroidismul este consecința incapacității osoase de a răspunde la hormonii paratiroidieni.

Dezvoltarea geneticii moleculare a dat o interpretare nouă mutațiilor genice. Acum se vorbește, mai exact începe să se vorbească, și în genetica umană de mutații în genele structurale și de mutații în genele de control. Această distincție se traduce prin efecte clinice deosebite. Mutațiile în genele structurale dau naștere la produși anormali calitativ.

Mutațiile în genele de control antrenează o diminuare a cantității de proteine sintetizate. Structural, proteinele sînt normale. În această categorie au fost incluse provizoriu hiperplazia congenitală a suprarenalei și cretinismul familial cu gușă. Presupunerea este sprijinită de faptul că enzimele specifice (21-hidroxilază-11-beta-hidroxilază și 3-beta-hidroxisteroizidehidrogenaza sau deiodinaza) lipsesc.

Sintetizînd aceste date, se poate spune că patogenia erorilor înnăscute de metabolism îmbracă aspecte diferite. Boala poate fi consecința cumulului de produși toxici sau a absenței produsului final activ. Dar se pot adăuga și urmările indirecte ale blocului enzimatic. În hiperplazia congenitală a suprarenalei, fenomenele de masculinizare sînt consecința secreției anormale de androgeni, care scapă de sub controlul hipofizei. Toate aspectele clinice sînt deci legate de o singură anomalie enzimatică. Ca atare, pleiotropismul, așa cum era definit în genetica clasică, nu este determinat de mutația simultană a mai multor gene, ci de un simplu bloc enzimatic.

Scanned with OKEN Scanner

Așadar, același defect biochimic se poate manifesta prin fenomene clinice mai mult sau mai puțin grave. Diversitatea clinică este influențată de numeroși factori: de prezența genelor modificatoare; de diversitatea condițiilor de mediu și de efectele sexului. Diversitatea patologică a lumii contemporane poate fi o reflectare a diversității condițiilor de mediu și, fără îndoială, a selecției naturale.

O boală ereditară nu se manifestă obligatoriu de la începutul vieții, chiar dacă defectele sînt prezente din momentul fecundației. Astfel, unele variante ale sindromului adrenogenital apar mai tîrziu. Aceeași observație este valabilă și pentru unele anomalii cromozomiale ale căror consecințe clinice se manifestă în preajma pubertății.

Mai greu de înțeles este rolul sexului. Astfel, numărul femeilor cu gușă este mult mai mare decît cel al bărbaților. S-a presupus că hiperplazia tiroidiană reflectă eforturile glandei de a se adapta la solicitările mai mari ale organismului feminin în timpul pubertății sau al sarcinii. Probabil că mai există și alte cauze pe care nu le știm. Oricum, gravitatea erorilor înnăscute de metabolism este inegală. În timp ce cretinismul este o afecțiune deosebit de gravă, gușa simplă poate fi tolerată uneori fără o îngrijire specială.

Cazuri sporadice. Foarte multe tulburări de origine genetică apar izolat. Aparent, acest caracter vine în contradicție cu legile eredității, care consideră că o tulburare este ereditară numai cînd manifestă o evidentă concentrare familială. Cauzele acestui fenomen sînt multiple.

Dacă boala apare ca o consecință a unei gene dominante, atunci cele mai multe cazuri sporadice sînt consecința unor noi mutații. Mai rar purtătorul manifestă efectele unei gene dominante care s-a transmis neregulat, cu penetranță incompletă, timp de mai multe generații, sau ale unei gene dominante care se manifestă evident numai în forma homozigotă și care în stare heterozigotă trece neobservată.

Cele mai multe cazuri sporadice sînt însă expresia unei gene recesive în stare homozigotă. Absența incidenței familiale se datorește volumului foarte mic al familiei umane.

Anomaliile cromozomiale apar aproape întotdeauna sporadic. Tulburările pe care le generează sînt suficient de binecunos-

Scanned with OKEN Scanner

cute pentru a nu mai fi confundate cu bolile determinate de mutaţii genice.

Cea mai dificilă problemă o pun fenocopiile. Cercetările experimentale au arătat că un mare număr de boli ereditare pot fi reproduse experimental. Pentru a diferenţia natura unei tulburări care poate să aibă origine dublă se impun întotdeauna investigaţii ample.

Genele letale

Mutaţiile antrenează o gamă de manifestări extrem de bogată, de la mici modificări biochimice pînă la moartea purtătorilor, care poate surveni în etape ontogenetice diferite şi în procente diferite. Atunci cînd toţi purtătorii sînt eliminaţi înainte de perioada de reproducţie, genele se numesc letale. Cînd mor numai 50% dintre purtători, genele se numesc subletale, iar cînd procentul este mai mic — subvitale.

După alţi autori, genele subletale antrenează doar o reducere importantă a vitalităţii. Moartea nu este o consecinţă obligatorie.

Anomaliile cromozomiale sînt şi ele letale. S-a demonstrat că cel puţin 15% dintre avorturi sînt consecinţa unei astfel de aberaţii. De asemenea, trizomiile 13—15 şi 16—18 antrenează moartea rapidă a purtătorilor.

Pentru a desemna cu un termen comun orice modificare ereditară care are efecte letale s-a propus termenul de factor letal. După Hadorn, aceşti factori sînt unităţi mendeliene.

Existenţa genelor letale a fost demonstrată experimental încă de la începutul acestui secol (Cuénot, 1911). Din experienţa crescătorilor de animale se ştia, de pildă, că nu se poate obţine o linie pură de şoareci galbeni. Din încrucişarea acestor animale rezultă întotdeauna 2/3 şoareci galbeni şi 1/3 şoareci de altă culoare. Această proporţie se abate de la proporţia ce se obţine în cazul încrucişării a doi heterozigoţi, şi anume 1/4 de culoare normală, 2/4 de culoare galbenă, dar heterozigotă şi 1/4 homozigoţi galbeni.

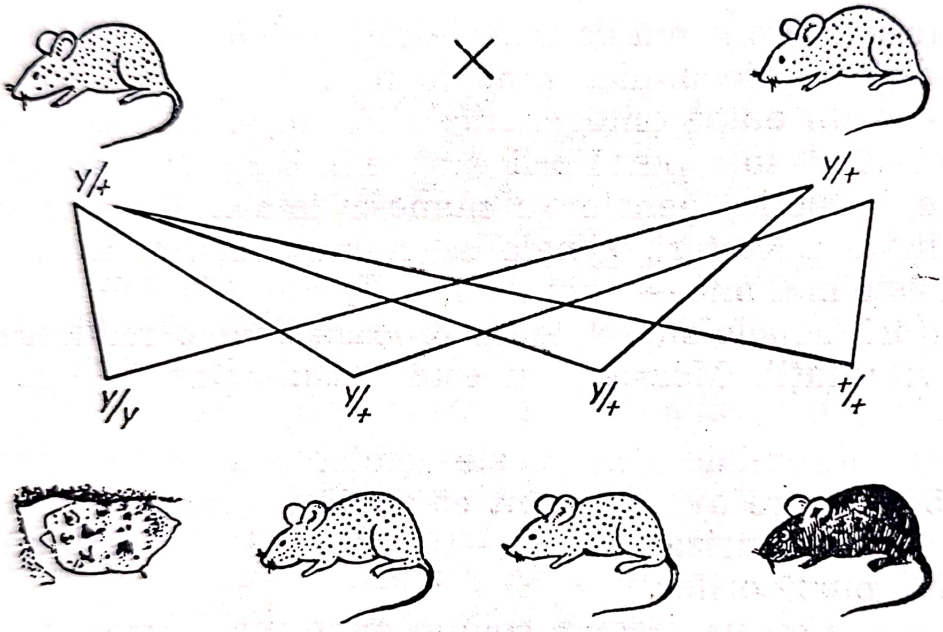
Pentru a explica acest fenomen s-au sacrificat femelele însărcinate înainte de naştere. S-a remarcat că aproape un sfert din

Scanned with OKEN Scanner

embrioni erau morți. De aceea s-a presupus că acești embrioni erau homozigoți pentru culoarea galbenă. Așa se explică absența homozigoților galbeni.

Numărul mutațiilor letale este foarte mare. Asemenea mutații au fost descrise la drosofilă, la șoarece și, bineînțeles, la om.

Printre numeroasele gene letale descrise la om, cele mai cunoscute sînt idioția amaurotică Tay-Sachs, atrofia musculară progresivă Werdnig-Hoffmann și ichtioza congenitală. Totodată



89. Încrucișare între șoareci galbeni: Y — factor galben; Y/Y — embrion letal (reproducție desenată de Hadorn)

se presupune că foarte multe avorturi și foarte mulți copii născuți morți sînt consecința genelor letale.

Factorii letali se transmit în conformitate cu legile mendeliene și de multe ori au caracter familial. Ei acționează în anumite etape ale dezvoltării individuale, numite faze fenocritice (zigotice, embrionare, fetale, prenatale, postnatale, infantile sau juvenile).

Locul de acțiune al factorului letal este variat. Uneori efectele sînt strict localizate. Astfel, în 1929, Snell a descris o

mutație recesivă (dw) care în stare homozigotă antrenează o formă letală de nanism hipofizar.

Un loc aparte pare să-l ocupe factorii letali puri. Existența lor este sugerată de copiii care mor fără să pară că au suferit de vreo boală.

Singura lucrare care sprijină existența acestor factori este aceea a lui Potter și Adair (1949). Cercetînd 17 500 de copii născuți la Chicago între 1941 și 1946, ei au constatat că 1,26% se născuseră morți. Dintre aceștia, 0,48% nu aveau nici o anomalie evidentă.

În acest caz se poate presupune că mutațiile apar nu numai în celulele germinale, ci și în celulele somatice. Presupunerea pare întemeiată, deoarece structura lor genetică este similară. Consecințele însă sînt diferite. În timp ce mutațiile germinale se transmit în generații succesive, mutațiile somatice dispar o dată cu individul în celulele căruia au apărut. Importanța lor depinde de gradul de dezvoltare a organismului. Dacă apar la embrion, ele pot cuprinde regiuni mari din organism. Dacă survin la adulți, efectele sînt, de obicei, neglijabile.

Și în cazul mutațiilor somatice se deosebesc mutații cromozomiale și mutații genice. Cea mai importantă și mai cunoscută mutație somatică este anomalia cromozomială Ph_1, care condiționează leucemia mieloidă cronică.

Mutațiile genice sînt probabil foarte numeroase. Uneori, ele au consecințe importante. Astfel, se crede că unele tumori oculare sporadice unilaterale sînt consecința acestui proces.

În 1958, Atwood și Scheinberg au arătat că uneori chiar și celulele hematopoetice pot suferi mutații. Ei au ținut sub observație indivizi cu grupa sanguină AB pentru a studia apariția unei eventuale mutații a lui A în B. În ipoteza că o asemenea mutație s-a produs, atunci adăugarea de anti-A va provoca aglutinarea celulelor AB în timp ce celulele B nu vor suferi nici o modificare. Cu această ocazie ei au constatat că aceste mutații, deși foarte rare, pot fi totuși descoperite.

Rămîne deschisă relația dintre mutațiile somatice și tumorile maligne. Deși o asemenea ipoteză este cu totul plauzibilă, nu avem încă suficiente date experimentale pentru a o confirma.

Scanned with OKEN Scanner

Izolate, consanguinitate și patologie

În lumea contemporană, exogamia este cea mai obișnuită modalitate de căsătorie. Excepțiile sînt rare. În Europa, căsătoriile consanguine nu depășesc 1% și aceasta se întîmplă de obicei în izolate. După Hanhart, prin izolate se înțelege o grupă de populație care are un număr de strămoși comuni mai mic decît acela al populației generale, din cauza unei anumite izolări în raport cu populația învecinată. Acest număr mai mic de strămoși comuni se explică prin căsătorii consanguine repetate, care au favorizat astfel întîlnirea de gene recesive homologe rare și manifestarea lor.

Izolarea poate fi determinată de factori multipli — geografici, etnici, religioși, economici etc. Nu trebuie să se creadă că ea este întotdeauna determinată geografic. În cadrul anumitor secte religioase ai căror membri se căsătoresc exclusiv între ei, izolarea are același caracter chiar dacă populația trăiește într-o mare metropolă. În asemenea condiții, endogamia este un fenomen firesc. Dacă volumul populației este redus apare și un coeficient mai mult sau mai puțin important de consanguinitate.

Sub raport genetic, prin endogamie apare o tendință la homozigoție. Implicit, într-o asemenea populație cumularea de mutații recesive poate atinge frecvențe care nu se întîlnesc niciodată la populațiile exogame. Deoarece apariția mutațiilor are un caracter întîmplător, fiecare populație poate avea un spectru patologic particular. În afară de creșterea bolilor recesive, s-ar putea ca endogamia să favorizeze și creșterea ratei de mutație spontane.

Oricum, cercetarea izolatelor a permis descifrarea naturii ereditare a multor boli și a permis identificarea unui număr impresionant de maladii noi.

De asemenea, se pare că studiul izolatelor va aduce contribuții importante pentru lămurirea problemelor atît de complexe ale geneticii populațiilor. Cîteva exemple vor ilustra importanța pe care o au izolatele în înțelegerea patologiei umane.

Scanned with OKEN Scanner

Surdomutitatea, de pildă, este determinată de cel puțin trei mutații independente. Aceste mutații ocupă mai mult de 50% din totalul cazurilor de surditate. Incidența generală a surdomutității este în general redusă. În țările cu exogamie puternică, cum sînt: Danemarca, S.U.A., Franța, se întîlnesc 0,4—0,5 cazuri la 1000 de locuitori. În Elveția însă, țară cu numeroase izolate, surdomutitatea atinge 2‰, iar în unele izolate chiar de zece ori mai mult. În România, în 1930, cel mai mare procent de surdomuți, și anume 0,8%, se găsea în comuna Rudăria din Banat. Aceasta se datora izolării satului. În prezent, în aceeași comună incidența a scăzut la jumătate (Milcu, 1964).

Retinita pigmentară se datorește unei mutații transmisă dominant. În mod obișnuit, frecvența ei este de un caz la 20 000 de oameni. În izolate, incidența poate fi mult mai mare. Cea mai ridicată valoare întîlnită pînă acum (0,5%) a fost găsită la Rudăria.

Tulburările mintale grave sînt una dintre cele mai complicate probleme ale medicinei contemporane. S-a estimat că cel puțin 9% dintre oameni prezintă o anumită tulburare mintală, care necesită tratament medical. Dintre aceștia, 1% sînt schizofrenici. Există însă un izolat în Suedia unde incidența bolii ajunge la 3%. De asemenea, în cîteva sate de pemi din Banat frecvența schizofreniei este mult mai mare decît media obișnuită.

Epilepsia este o tulburare cu origine incertă. Se admite că ereditatea determină numai un anumit prag epileptogen. Factorii de mediu care în mod obișnuit sînt inofensivi pentru marea majoritate a oamenilor antrenează crize epileptice la purtătorii genei anormale. Frecvența tulburării nu este prea mare (0,3—0,5%). Valori mai mari s-au întîlnit numai în mod cu totul excepțional. Într-o comună endogamă din Bucovina s-a observat că frecvența tulburării este de 1,7% (D. Ioanițiu, 1965). Exemplul cel mai concludent rămîne însă izolatul protestant Orthéz din Pirinei. După reforma religioasă, populația acestei comune a rămas exclusiv endogamă. Existența unei gene anormale a atins prin endogamie o concentrare atît de

Scanned with OKEN Scanner

mare, încît în fiecare familie exista cîte un afectat. Spre sfîrșitul secolului al XIX-lea frecvența a început să scadă.

La fel de cunoscut este și satul Izeaux din Isère (Franța). După informații foarte vechi, dar fără îndoială corecte, spre sfîrșitul secolului al XVIII-lea aproape toți locuitorii acestui izolat aveau polidactilie la mîini și la picioare. În cursul secolului următor, anomalia a început să dispară.

La copii sub 14 ani, criptorhidia, adică absența testiculelor din scrot, numai cu totul excepțional atinge 0,2—0,5%. În cîteva izolate cercetate de noi, frecvența anomaliei a fost de 2,5—3%.

Anodonția, lipsa unui dinte (de obicei a incisivilor) se întîlnește în mod obișnuit la 2—3% dintre oameni. Johr a studiat un izolat elvețian în care frecvența anodonției era de 30%. Adina Negrea a observat că prezența unui dinte suplimentar, meziodensul, este extrem de rară în țara noastră. Face excepție comuna Rudăria, unde meziodensul se întîlnește la 5% dintre școlari.

O dată cu spargerea izolatelor, frecvența endogamiei a scăzut continuu. A scăzut, de asemenea, și frecvența bolilor recesive.

Consecințele genetice ale uniunilor consanguine au fost întrezărite încă de la începutul secolului al XIX-lea. În 1856, P. Ménière afirmă că surdomutitatea apare frecvent printre descendenții rezultați din căsătorii consanguine.

În deceniile următoare, acestei probleme i s-au consacrat numeroase studii. Multe dintre ele au fost însă eronat conduse și de aceea rezultatele obținute nu au fost acceptate decît cu foarte multe rezerve. Una dintre cele mai importante cercetări de acest fel a fost efectuată de Sutter pe 262 de familii consanguine din departamentul Morbihan și pe 264 de familii din departamentul Loire et Cher. El a urmărit în special incidența malformațiilor congenitale și a mortalității infantile. Cei doi parametri cercetați se referă în fond la același fenomen — frecvența mutațiilor nocive.

Datele culese în cursul acestor cercetări au arătat că mortalitatea infantilă este semnificativ mai mare în familiile consanguine decît în cele neconsanguine. În aceste familii crește de asemenea și frecvența malformațiilor congenitale.

Scanned with OKEN Scanner

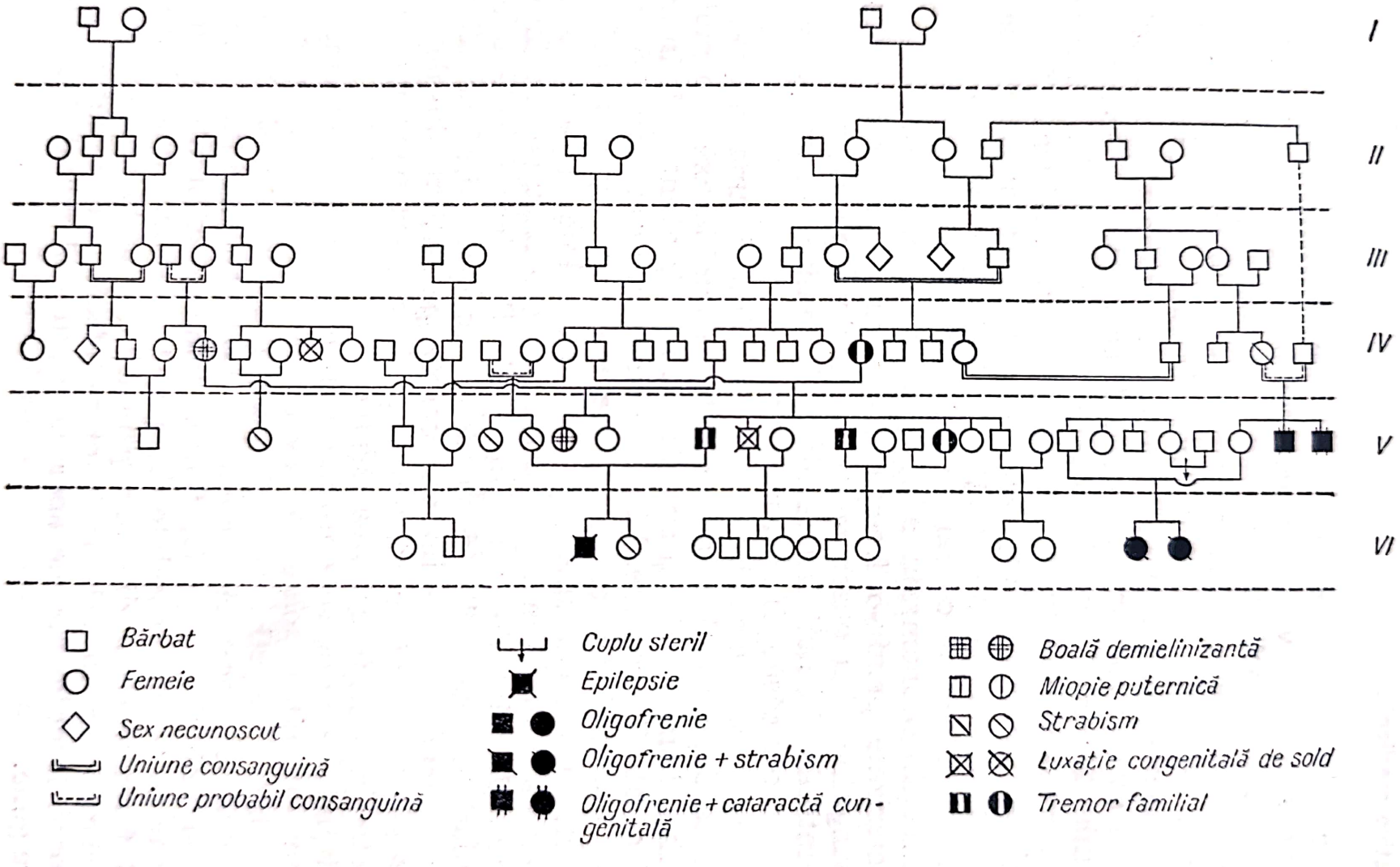
Într-o cercetare efectuată pe 600 de familii consanguine americane (soții erau veri primari), compuse din 2 981 de membri, 2 034 erau normali, 869 purtau o singură anomalie (cifra este foarte mare pentru că au fost incluse și 240 de cazuri de tuberculoză), 74 prezentau două anomalii, iar patru indivizi aveau trei anomalii. Cele mai frecvente malformații erau idioția, 235 de cazuri; surdomutitatea, 107; cecitatea, 53; epilepsia, 46; nebunia, 28; malformațiile osoase, 18 și nanismele, 36. Asociațiile sînt surprinzător de frecvente: idioție-strabism, 12 cazuri; idioție — epilepsie, 10; idioție-amauroză, 6; idioție-nanism, 5. Se remarcă marea incidență a tulburărilor mintale.

Un alt efect al consanguinizării ar fi scăderea rezistenței la infecții. Dronamraju a studiat cîteva populații din India, caracterizate printr-o frecvență extrem de mare de căsătorii consanguine și a observat că tuberculoza pulmonară este mai des întîlnită la indivizii rezultați din uniuni consanguine, decît la cei din căsătorii exogame.

Efectele consanguinizării nu sînt întotdeauna nocive. Ele prezintă doar riscul ca atunci cînd în familie există o mutație recesivă, homozigoția să apară mult mai frecvent decît în cazul unei căsătorii exogame. Riscul depinde în primul rînd de frecvența mutației. Cu cît gena este mai rară, cu atît incidența căsătoriilor consanguine este mai mare. Dacă însă în familie nu există mutații nocive, căsătoriile consanguine nu implică un risc deosebit de mare. În Insula Pitcairn trăiește o mică populație formată din descendenții rezultați din încrucișarea unor răsculați de pe un vas englez părăsiți pe insulă acum două secole și din cîteva tahitiene. În această populație, bolile genetice nu sînt totuși prea răspîndite.

Ținînd seama de cele arătate mai sus, se pune problema dacă consanguinitatea poate să favorizeze homozigoția unor gene favorabile. Teoretic, această posibilitate există și în istoria omenirii se cunosc cîteva mari personalități rezultate din asemenea uniuni. De pildă, Sutter remarca existența unui mic număr de familii deosebite din punct de vedere fizic și intelectual formate chiar din veri primari. Cu toate acestea trebuie să conchidem că cele mai multe efecte sînt negative și că aproape întotdeauna ele apar ca rezultat al mutației unei singure gene.

Scanned with OKEN Scanner



90. Arborele genealogic al unei familii din izolatul Sf. Elena (Observație C. Lupu)

Scanned with OKEN Scanner

Legăturile genice în medicină

S-a arătat mai înainte că genele sînt dispuse succesiv de-a lungul unui cromozom. Datorită acestui fapt, genele dintr-un cromozom se transmit împreună dacă nu intervine fenomenul de *crossing-over*. Această legătură dintre gene se numește linkaj. Pentru a exprima mai clar acest fenomen trebuie să precizăm că nu genele sînt în linkaj, ci locusurile respective. Astfel, dacă spunem că există un linkaj între un caracter oarecare și grupele sanguine, grupa sanguină poate fi A, B sau O, dar în fiecare familie ea este aceeași.

Prin linkaj nu se înțelege o relație cauzală între două caractere. Prezența simultană a două caractere poate fi pusă pe seama poziției întîmplătoare a celor două gene în același cromozom. Dar acest caracter întîmplător trebuie analizat atent, deoarece filogenetic prin selecție s-au adus cît mai aproape genele care intervin în același proces metabolic.

Linkajul autozomal este aproape necunoscut. Deși pe fiecare cromozom se găsesc mii de gene, iar pe autozomi un număr probabil uriaș, pînă acum s-au descoperit numai trei forme de linkaj.

Între sindromul unghie-rotulă și grupele sanguine A-B—O; între ovalocitoză și Rh și între grupul sanguin Lutheran și genele secretoare.

Mai sînt admise ca posibile linkajurile între cataracta pulverulentă și sistemul Duffy și între grupele sanguine MN și polipoza intestinală multiplă.

Așa cum remarcam mai înainte, în aceste împrejurări afectații prezintă simultan tulburarea și grupa sanguină respectivă. Se cunosc și excepții. Astfel, într-un studiu asupra unei familii care prezenta sindromul unghie-rotulă, unul dintre membri era indemn, dar avea grupa sanguină A_1, grupă care apărea exclusiv la membrii afectați. Deoarece el era indemn, se admite ca explicație apariția *crossing-over*-ului care a separat cele două gene.

Dacă linkajul autozomal este încă greu detectabil, localizarea genelor pe cromozomii de sex este mult mai ușoară. În aceste cazuri, caracterele se transmit după legi binecunoscute. Pînă

Scanned with OKEN Scanner

în prezent se cunosc aproximativ 80 de caractere determinate de gene situate pe cromozomul X. Dintre acestea, aproape 60 sînt certe și 20 probabile (Mc. Kusick).

În prima categorie intră, între altele, daltonismul, hemofilia A și B, deficiența glucozo-6-fosfatdehidrogenazei și antigenul sanguin Xg^a.

După descoperirea anomaliilor cromozomiale a devenit posibilă și localizarea genelor pe autozomi. Cercetările pleacă de la premisa că genele condiționează sinteza unei proteine specifice. Dacă la persoanele cu aberații cromozomiale se găsesc cantități de enzime diferite de cele normale, se poate presupune că enzima respectivă se află sub controlul unor gene situate pe cromozomul suplimentar, absent sau anormal.

Investigațiile efectuate printre copiii cu sindrom Down sugerează ideea că sinteza a cel puțin două enzime (galactozo-uridil-transferaza și fosfataza alcalină leucocitară) sînt dependente de gene situate pe cromozomul 21. De asemenea, există indicații că locusurile ABO ar putea fi situate pe același cromozom.

Nu întotdeauna însă prezența a două caractere poate fi pusă în seama fenomenului de linkaj. Două caractere pot fi găsite împreună, deoarece între ele există, sau ar putea exista, o relație cauzală. Această posibilitate a fost numită asociere. Asocierea presupune că cele două caractere sînt condiționate fie de aceeași genă (pleiotropism), fie de faptul că una dintre gene favorizează, în afară de apariția propriului său caracter, și alte caractere.

Cea mai discutată problemă din acest context o constituie relația dintre grupele sanguine și patologie. Istoria acestei relații a început în 1921, cînd Alexander a afirmat că persoanele care au grupele sanguine B și AB sînt mai predispuse la cancer decît persoanele care aparțin celorlalte grupe sanguine. Problema este reluată abia în 1953, cînd Aird arată că există într-adevăr o asemenea relație. Cercetări ulterioare, de o amploare cu totul neobișnuită, au arătat că există o asociere statistică cel puțin între un număr relativ restrîns de boli și grupele sanguine.

Aird a observat o creștere a frecvenței grupei sanguine A și o scădere a grupei O la indivizii cu cancer la stomac, scădere semnificativă față de populația locală. Mai tîrziu, alte cer-

cetări efectuate în Elveția, Argentina și S.U.A. au confirmat existența acestui fenomen. Cele mai interesante rezultate sînt cele obținute de Eisenberg (1958) în S.U.A.

Grupa sanguină	Martori	Cancer de stomac	Diferența în %
O	33 174—43,71	344—38,57	—5,14
A	30 601—40,31	401—44,96	+4,65
B	8 864—11,68	111—12,44	+0,76
AB	3 265— 4,30	36— 4,04	—0,26

Datele par demonstrative. Relația dintre alte forme de cancer și grupele sanguine a fost numai rareori pozitivă. În 1925, Dossena a sesizat o creștere a frecvenței grupei O printre femeile cu cancer de tract genital, iar Mayr a observat printre bolnavii cu adenom hipofizar o creștere importantă a grupei O și o scădere marcată a grupei A. Grupa O pare asociată și cu ulcerul duodenal. Asociația stabilită de Aird a fost confirmată de numeroși autori. Ea pare specifică. La bolnavii cu ulcer gastric, asocierea este mai puțin evidentă. Anemia pernicioasă pare mai frecventă la indivizii din grupa A și mai rară la cei din grupa O.

Existența unei asociații între bolile infecțioase și grupele sanguine nu a fost sesizată decît o singură dată. Astfel, în 1951, Struther a observat că copiii cu grupa O fac bronchopneumonie mult mai rar decît copiii cu alte grupe sanguine. În timp ce în seria-martor incidența grupei O era de 51%, printre copiii cu bronchopneumonie ea era de numai 25,5%. O altă cercetare pe 93 de copii cu aceeași tulburare a pus în evidență același deficit de grupă O.

În 1954, Pike și Dickins au remarcat că femeile cu grupa O prezintă mai des toxemie gravidică decît femeile cu alte grupe.

Alte cercetări au sugerat existența unei asociații între diabet și grupa O. Relația cauzală între aceste caractere nu este cunoscută. Explicațiile date pînă în prezent nu sînt susținute de nici un fel de dovezi experimentale. Astfel, se admite că antigenul O favorizează acțiunea factorilor care influențează apariția ulcerului.

Scanned with OKEN Scanner

Lipsa unor explicații nu exclude realitatea unui fenomen. În cazul de față însă este contestată însăși realitatea fenomenului. În foarte multe cercetări de control rezultatele au fost negative sau neconcludente. În 1956, Jennings nu găsește un exces de indivizi cu grupa A printre bolnavii cu cancer gastric. Nici Damon, care a studiat o serie formată din 203 cazuri de adenom hipofizar, nu reușește să găsească o corelație cu grupele sanguine. Apoi, în timp, cu excepția ulcerului duodenal, toate celelalte asociații au fost infirmate.

Pe lîngă rezultatele contradictorii obținute în cercetări repetate și care pun la îndoială realitatea unei asociații cauzale între grupele sanguine și boală, Manuilă aduce în plus o serie de argumente deosebit de puternice. În stabilirea seriei-martor și în determinarea grupelor sanguine pot interveni trei categorii mari de erori: erori determinate de felul cum s-a ales seria-martor, erori care derivă din faptul că seria nu este reprezentativă pentru întreaga populație și erori în tehnica determinării grupelor sanguine.

Dacă se ține seama de acești parametri, atunci rezultatele obținute în ulcerul duodenal devin incerte. Oricum, problema rămîne deschisă. Teoretic însă este foarte puțin probabilă existența unei relații cauzale între aceste două caractere.

Genetica medicală comparată

Numeroase probleme de genetică medicală nu pot fi abordate din cauza greutăților specifice pe care le ridică cercetarea omului. Dintre acestea, cea mai semnificativă rămîne imposibilitatea încrucișărilor dirijate. Din această cauză, efectele genelor dominante în forma homozigotă sau contribuția pe care o au factorii de mediu în realizarea unui caracter dat, de pildă, sînt deseori imposibil de rezolvat. Chiar dacă întîmplător se vor căsători doi afectați și vor da naștere unui copil homozigot, observațiile nu vor putea fi generalizate. Pentru a rezolva o asemenea problemă este nevoie de serii mari, pe care societatea umană cu greu le va putea realiza.

Din această cauză se apelează la rezultatele geneticii comparate. Într-adevăr, cercetările de genetică animală au arătat

că multe boli ereditare sînt cu totul asemănătoare bolilor cunoscute la om.

Compararea rezultatelor este justificată, deoarece omul și animalul au un plan de organizare biologică asemănător. În ciuda diferențelor importante de volum, la toate mamiferele se întîlnesc aceleași structuri și funcții. Datorită acestor similitudini, fiziologia a putut descoperi principii fundamentale întîi la animale și apoi la om.

Firește, extrapolarea rezultatelor la om nu se poate face fără rezerve. Fiecare specie are un sistem genetic propriu, cu alt număr de cromozomi, ca atare cu altă succesiune și dispoziție a genelor. Implicit, două tulburări ereditare la două specii diferite pot fi condiționate de o genă cu funcție asemănătoare sau de gene diferite. De asemenea, genele pot fi localizate în același cromozom sau, mai probabil, în cromozomi diferiți.

Unul dintre cele mai importante servicii aduse de genetica animală geneticii umane a fost stabilirea momentului și a locului de acțiune a mutației. Pentru rezolvarea acestei probleme, animalele sînt sacrificate în momente diferite ale ontogenezei. În felul acesta se poate explica dacă o mutație are într-adevăr efecte pleiotropice sau dacă toate tulburările sînt consecința unei singure anomalii biochimice.

Concluziile obținute la animale permit apoi susținerea originii ereditare a unei tulburări care la om este mai greu de demonstrat. Astfel, originea criptorhidiei umane este incertă. Se presupune că un procent relativ mic de cazuri este de natură ereditară, consecutiv unei mutații genice transmise dominant neregulat. S-ar putea să mai existe încă o mutație recesivă, care în stare homozigotă să determine aceeași anomalie. Originea genetică a criptorhidiei se cunoaște de multă vreme la animale. Aceasta este un argument puternic în sprijinul ipotezei că criptorhidia are origine ereditară.

Alte cercetări de genetică animală au studiat efectul mutațiilor dominante în stare homozigotă, Condrodistrofia umană este determinată de cel puțin o mutație autozomală transmisă dominant. Homozigoții nu sînt încă cunoscuți. Ca atare, nu se știe dacă în formă homozigotă efectele mutației nu sînt mult mai grave. La bovine se cunosc două forme de acondroplazie, dintre care una este asemănătoare celei umane. În stare homo-

Scanned with OKEN Scanner

zigotă, gena este letală. De aceea, se poate presupune că și la om mutația pentru acondroplazie ar avea consecințe similare. Observații sistematice ar putea confirma acest fenomen. De altfel, genetica animală a anticipat multe fenomene care mai tîrziu s-au dovedit a fi valabile și în genetica umană. Exemplul cel mai concludent îl constituie hemofilia. Această tulburare a procesului de coagulare este determinată la om de o mutație recesivă legată de sex. La cîine mutația se găsește tot pe un cromozom X. Prin încrucișări dirijate s-au obținut femele hemofilice. S-a observat cu această ocazie că deși ele au gena în doză dublă, efectele clinice nu sînt mai severe decît la bărbat. Totodată, ele sînt și fertile. Ceva mai tîrziu, s-au făcut observații similare și la om.

De asemenea, cercetările de genetică animală au demonstrat rolul important pe care îl au condițiile mezologice în apariția și dezvoltarea caracterelor anormale. De pildă, Wright a studiat la hamster un tip de polidactilie determinat de o mutație recesivă. Apariția degetului supranumerar este influențată de vîrsta mamei. În aceeași linie de animale, mamele imature dau naștere la un număr de descendenți polidactili mult mai mare decît femelele mature. Vîrsta mamei are uneori însă consecințe contrare. Astfel, Reed a constatat că puii născuți din femele de șoarece în vîrstă au mai des buză de iepure decît puii născuți din mame tinere.

În 1936, Nachtheim a studiat absența incisivilor la iepure. Anomalia, de obicei bilaterală, este determinată de o mutație dominantă. Apariția unilaterală a anomaliei este influențată de factorii de mediu.

Numărul bolilor ereditare la animale este mult mai mic decît cel cunoscut la om. Explicația acestui fapt pare să rezide în primul rînd în insuficienta cercetare a patologiei genetice la animale. Sindroamele descrise pînă acum privesc de obicei malformații somatice evidente. Tulburările biochimice, fără îndoială numeroase, sînt încă necunoscute.

Desigur, un număr suficient de mare de sindroame este specific omului, după cum un număr oarecare este specific fiecărei specii de animal. Bolile comune se întîlnesc la nivelul tuturor sistemelor.

Scanned with OKEN Scanner

BOLI EREDITARE ÎNTÎLNITE LA ANIMALE ŞI LA OM, DUPĂ SEARLE

Specia	Boala	Simbolul	Heterozigoţi	Homozigoţi
Bovine	acondroplazie	—	picioare scurte şi cap larg	letală
Oaie	ancon	—	normal	picioare scurte încovoiate; picioarele posterioare mai grav afectate decît cele anterioare
Iepure	acondroplazie	ac 1	normal	letală
Iepure	osteopetroză		normal	letală
Pisică	polidactilie	—	degete supranumerare	ca la heterozigoţi
Pisică	ectrodactilie	sh	malformaţii caracteristice	probabil letală cu oligodactilie extremă
Şobolan	anemie sferocitară letală	on	normal	letală prin anemie severă-icter
Şoarece	surditate	dn	normal	surditate — degenerarea elementelor cohleare
Şoarece	anoftalmie	ey 1-ey 2	normal	anoftalmie
Şoarece	microftalmie	mi	diluţie a pigmentului ocular	microftalmie
Şobolan	retinită pigmentară	—	normal	degenerarea retinei

Scanned with OKEN Scanner

Specia	Boala	Simbolul	Heterozigoți	Homozigoți
Șoarece	ataxie	ax	normal	hiperactivitate tremor, paralizia membrelor
Șobolan	siringomielie	sy	normal	paralizie spastică de obicei a unui singur membru
Iepure	hidrocefalie	hy	normal sau cu ușoară hidrocefalie	tulburări grave
Iepure	nanism	dw	volum ușor redus	frecvent letală
Șoarece	nanism hipofizar	dw	—	nanism accentuat, sterilitat

Genetica comparată este o știință tînără, care va aduce probabil o contribuție însemnată la înțelegerea patologiei ereditare umane.

Genetica aplicată

Foarte mult timp s-a considerat că genetica este o știință pur teoretică. În ultima vreme s-a constatat însă că gîndirea genetică și metodele genetice sînt extrem de fecunde în toate domeniile biologiei. Astfel, agricultura datorează geneticii soiuri deosebit de prețioase de cereale. Prin încrucișări dirijate și prin selecționarea descendenților valoroși s-au obținut rase utile de animale, iar industria de antibiotice a obținut pe calea mutațiilor sușe de ciuperci cu mare productivitate.

Scanned with OKEN Scanner

Genetica a pătruns și în medicină, unde a contribuit la modificarea profundă a metodelor de tratament și de profilaxie, precum și la restructurarea clasificării bolilor. Medicina modernă, care timp de cîteva decenii a ignorat genetica, a fost pusă acum pe baze genetice. Această colaborare dintre medicină și genetică a început să fie din ce în ce mai fructuoasă.

Diagnosticul clinic nu mai poate face abstracție de existența bolilor ereditare. Mai mult, în stabilirea diagnosticului se impune precizarea diferitelor forme ereditare, precizare indispensabilă pentru aplicarea unui tratament și a unei profilaxii eficiente. În favism, cît și în alte anemii hemolitice determinate de medicamente, diagnosticul corect duce la eliminarea substanțelor hemolitice și, o dată cu aceasta, asigură o profilaxie rațională a bolii.

În aplicarea tratamentului se va ține în permanență seama de natura ereditară a bolii. Cel mai bun tratament ar fi modificarea genotipului anormal. Cum însă o asemenea metodă este departe de posibilitățile noastre actuale, tratamentul va fi substitutiv, înlocuindu-se produsul final absent consecutiv enzimopatiei. În hipotiroidii se vor administra hormoni tiroidieni, iar în diabet, insulină.

Malformațiile congenitale pot beneficia de un tratament chirurgical. Multe anomalii minore, ca, de pildă, polidactilia, sindactilia, buza de iepure, pot fi corectate.

Prognosticul bolilor ereditare poate fi apreciat dacă se ține seama de influența factorilor ereditari. Deseori boala începe în aceeași familie, la aceeași vîrstă și are aceeași evoluție.

Profilaxia genetică are un caracter complex. Ea urmărește să împiedice apariția bolii la un individ predispus sau să diminueze gravitatea manifestărilor clinice. De asemenea, profilaxia caută să împiedice transmiterea genelor anormale în generațiile următoare. Fiecare dintre aceste probleme impune măsuri profilactice particulare.

Unele boli nu apar decît în condiții favorabile de mediu. Astfel, diabetul se dezvoltă deseori la indivizi predispuși numai dacă aceștia devin obezi printr-o alimentație nerațională sau fac infecții pancreatotrope. Varicele, expresia unei tulbu-

Scanned with OKEN Scanner

rări generale a țesutului conjunctiv, poate fi prevenit dacă se elimină factorii favorizanți, iar litiaza renală, frecvent ereditară, poate fi evitată printr-un regim alimentar adecvat.

Aceste cîteva exemple sînt suficiente pentru a demonstra că uneori se poate asigura o profilaxie eficientă a bolilor ereditare. Acesta este un aspect important, dar nu singurul din profilaxia genetică. Există numeroase boli care se manifestă de la naștere și totuși sînt compatibile cu viața. În acest caz profilaxia urmărește scăderea frecvenței genei. Măsurile preconizate sînt condiționate de modul de transmitere a genei.

Sfaturile genetice

Profilaxia bolilor ereditare se bazează îndeosebi pe sfaturile genetice. Aceasta este deocamdată cea mai eficientă metodă de care dispune genetica. Sfatul genetic are un caracter strict individual. El este rezultatul cercetării amănunțite, și deseori îndelungate, a fiecărei familii. La aceste cercetări participă în general specialiști din domenii diferite: geneticieni, medici, biochimiști, psihologi, sociologi.

Sfaturile genetice se pot da înainte sau după căsătorie. Cele mai eficiente sînt sfaturile prenupțiale. În practică însă, aproape întotdeauna solicită sfaturi părinții care au deja un copil afectat și vor să știe dacă viitorul copil va prezenta o afecțiune similară. Mai rar cer sfaturi soții afectați sau soții care provin din familii afectate.

Dinamica sfaturilor genetice presupune cîteva condiții necesare. Una dintre ele este stabilirea exactă a diagnosticului afecțiunii. Se știe din genetica medicală că aceeași boală poate fi determinată de mutații autozomale independente sau legate de sex, dominante sau recesive. Diabetul insipid, de pildă, este determinat de cel puțin patru mutații — două dominante autozomale și două recesive legate de sex. Firește, sfatul genetic va fi stabilit numai după ce s-a precizat forma clinică și genetică.

Scanned with OKEN Scanner

Altă condiţie impusă de dinamica sfaturilor genetice este cunoaşterea istoriei familiale individuale. Aceeaşi tulburare se transmite uneori dominant regulat, alteori dominant neregulat, cu penetranţă completă sau incompletă. Expresivitatea diferă de la o familie la alta. Fiecare familie are propriile sale particularităţi. De pildă, ectrodactilia este o malformaţie a mîinilor care se transmite de cele mai multe ori dominant autozomal, cu penetranţă mare şi expresivitate redusă. Se cunosc însă şi cîteva familii în care penetranţa este incompletă şi expresivitatea variabilă, precum şi familii în care malformaţiile apar numai la mîini sau numai la picioare. De asemenea, trebuie cunoscute condiţiile în care a evoluat sarcina pentru a elimina existenţa unei fenocopii.

Sfaturile genetice impun şi cunoaşterea datelor din literatură cu privire la apariţia malformaţiilor. Foarte multe boli şi îndeosebi foarte multe malformaţii congenitale nu se transmit conform legilor mendeliene. În aceste cazuri se foloseşte riscul empiric.

În bolile dominante cu transmitere regulată riscul fiecărui copil depinde de numărul de părinţi afectaţi. În ipoteza că numai unul dintre ei peste purtătorul unei mutaţii în stare heterozigotă, aşa cum se întîmplă de obicei, riscul este de 50%. Dacă ambii părinţi sînt afectaţi, riscul creşte la 75%. În acest caz se adaugă însă şi posibilitatea ca descendenţii homozigoţi să manifeste o tulburare mult mai gravă decît părinţii heterozigoţi.

Aprecierea riscului se face mai greu cînd penetranţa este incompletă. În această eventualitate, penetranţa se poate calcula numai dacă afecţiunea cuprinde un număr suficient de mare de indivizi şi de generaţii. Dacă această condiţie nu poate fi îndeplinită, se apelează la datele din literatură.

Sfatul care va fi dat depinde de gravitatea tulburării şi de posibilitatea corectării ei. Pot avea descendenţi persoanele cu polidactilie sau sindactilie, deoarece modificările funcţionale sînt relativ reduse. Sfatul va fi rezervat pentru malformaţiile majore — ectrodactilie, rinichi polichistic, feocromocitom.

Bolile recesive sînt transmise de persoane aparent indemne, dar purtătoare ale unei gene recesive în stare heterozigotă.

Scanned with OKEN Scanner

Din căsătoria a doi heterozigoţi se nasc teoretic trei copii sănătoşi şi unul afectat. Dintre copiii sănătoşi, doi (50% din totalul copiilor născuţi) sînt purtători. Această frecvenţă este întîlnită numai dacă se analizează serii mari. În familia umană, aproape întotdeauna cu efectiv mic, uneori toţi copiii născuţi pot fi afectaţi sau toţi pot fi indemni. Dacă ambii părinţi sînt afectaţi, atunci şi descendenţii vor fi afectaţi. O problemă deosebit de importantă o ridică căsătoria persoanelor afectate. Teoretic, orice bolnav se poate căsători dacă partenerul său nu este heterozigot. În acest caz, toţi copiii vor fi sănătoşi, dar purtători. De aceea este necesar ca partenerul indemn să fie studiat, pentru a descoperi existenţa unei eventuale stări heterozigote. Dacă întîmplător partenerul este heterozigot, atunci riscul fiecărui copil de a fi afectat este de 50%. Ceilalţi vor fi purtători. Şansa de a întîlni un heterozigot este condiţionată de frecvenţa mutaţiei în populaţia respectivă. Dacă gena anormală este rară, riscul va fi mic. Riscul creşte considerabil în căsătoriile consanguine. Pornind de la premisa că fiecare individ poartă cîteva mutaţii cu efecte nocive în stare homozigotă, căsătoriile consanguine nu trebuie favorizate, deoarece în acest caz şansa de a întîlni aceleaşi gene este mare.

Astfel, Waardenburg arăta că la copiii rezultaţi din căsătorii consanguine se cunosc cel puţin o sută de anomalii oculare. De asemenea, frecvenţa malformaţiilor congenitale în familiile consanguine este mai mare decît în căsătoriile exogame.

Numărul bolilor recesive este considerabil. Cele mai multe reprezintă erori înnăscute de metabolism şi sînt foarte grave, ca de pildă cretinismul sporadic, fenilketonuria, galactozemia.

Sfatul dat partenerilor care prezintă riscul de a avea un copil cu o boală recesivă trebuie să fie foarte prudent.

Bolile legate de sex nu au o importanţă prea mare, deoarece sînt rare. Cea mai cunoscută este hemofilia. Din căsătoria unui hemofilic cu o femeie normală vor rezulta băieţi sănătoşi şi fete purtătoare. Boala va apărea astfel la nepoţi. Ea va fi prezentă în prima generaţie numai dacă hemofilicul se căsătoreşte cu o purtătoare. În această eventualitate, 50% dintre fete vor fi afectate şi 50% purtătoare, iar dintre băieţi 50% vor fi he-

Scanned with OKEN Scanner

mofilici și 50% indemni. Deci riscul de a transmite afecțiunea îl au și bărbații bolnavi și surorile lor aparent sănătoase, dacă sînt heterozigote.

Eugenia a apărut la sfîrșitul secolului al XIX-lea, în plină perioadă de dezvoltare a științelor naturii, și urmărea — în spiritul ideilor lui Darwin — să asigure scăderea continuă și eliminarea în timp a indivizilor tarați.

Eugenia pornea astfel de la principii care aparent corespundeau unor evidente necesități. În deceniile următoare împiedicarea răspîndirii mutațiilor nocive a devenit o problemă foarte actuală.

Într-adevăr, în condițiile lumii contemporane numărul factorilor mutageni a crescut îngrijorător, în timp ce mijloacele profilactice au rămas aproape aceleași. În același timp, datorită marilor progrese ale medicinei, media de viață a afectaților genetic a crescut considerabil. Căsătorindu-se, ei transmit genele mutante descendenților. De asemenea, în multe țări s-au făcut eforturi importante pentru a asigura menținerea în viață a multor bolnavi. Mai mult, ca o măsură perfect justificată, infanticidul copiilor handicapați este pedepsit prin lege. În asemenea condiții eficiența selecției naturale a scăzut continuu. Problema a antrenat specialiști din toate ramurile științelor sociale și biologice, specialiști care au formulat puncte de vedere diferite asupra măsurilor de profilaxie genetică.

Măsurile promovate de eugenie au fost împărțite în două categorii: Astfel *eugenia negativă* are drept scop reducerea frecvenței mutațiilor nefavorabile și deci a incidenței purtătorilor lor. Pentru realizarea acestui deziderat s-a propus sterilizarea persoanelor afectate, întreruperea sarcinii, interzicerea căsătoriei indivizilor cu boli ereditare etc.

Unele legislații au impus chiar declararea anumitor boli ereditare. Eugenia are astfel un caracter activ.

Eugenia pozitivă cere măsuri care să favorizeze înmulțirea indivizilor avantajați genetic. Acest aspect nu a găsit însă ecou și a rămas o simplă idee, deoarece este greu de definit și de

Scanned with OKEN Scanner

stabilit factorii care condiționează apariția caracterelor favorabile.

Astfel, coeficientul de inteligență, care se presupune că exprimă gradul de inteligență al unui individ, a fost mult folosit în psihologie între cele două războaie mondiale. Astăzi el nu se mai utilizează, deoarece inteligența este un caracter condiționat preponderent de factorii de mediu. Istoria eugeniei active începe o dată cu secolul al XX-lea, cînd în Statele Unite sînt promulgate primele legi asupra sterilizării. La început sterilizarea era admisă pentru bolnavii înapoiați mintal sau pentru epileptici. În cîteva state americane mai puteau fi sterilizați indivizii cu boli ereditare nervoase, cu malformații congenitale sau homosexuali. De cele mai multe ori, sterilizarea presupunea consimțămîntul afectatului. Numai în cîteva state ea avea caracter obligatoriu. Pînă în 1950, în Statele Unite au fost sterilizate aproape 50 000 de persoane.

Sterilizarea a mai fost admisă în Europa (Elveția, Norvegia, Suedia, Finlanda), în Asia (Japonia) și în America de Sud (Columbia britanică).

Ca și în Statele Unite, sterilizarea se face prin ligaturarea canalelor deferente sau prin iradieri. În toate aceste țări, sterilizarea se efectuează numai la cererea bolnavului. În 1955, în Europa sterilizarea mai era aplicată doar în Scandinavia și în cîteva cantoane din Elveția.

Întreruperea sarcinii. În foarte multe țări întreruperea sarcinii are caracter excepțional. Se admite doar în cazul în care viața mamei este periclitată de sarcină sau în cazul în care există riscul transmiterii unei boli ereditare grave. Cele mai numeroase motive de întrerupere a sarcinii le constituie tulburările neurologice și psihopatiile.

Interzicerea căsătoriei unei categorii limitate de bolnavi (debili mintali, alcoolism cronic, epilepsie) a fost legiferată în unele țări din Europa și din America. Dar, după cum remarca Kemp, aceste măsuri nu par să fie aplicate prea des.

Rezultatele măsurilor preconizate de eugenie sînt imposibil de apreciat. În primele decenii ale secolului al XX-lea s-a crezut că sterilizarea va antrena o scădere rapidă a bolilor ereditare.

Scanned with OKEN Scanner

Dezvoltarea geneticii experimentale a demonstrat însă că nu avem încă nici o posibilitate de a suprima apariţia noilor mutaţii. Chiar într-o populaţie în care nu există nici o tulburare ereditară pot să apară unele boli ereditare, ca o consecinţă a mutaţiilor spontane. De obicei, multe mutaţii sînt letale sau antrenează sterilitatea purtătorilor. În asemenea împrejurări, frecvenţa bolii va fi egală cu frecvenţa noilor mutaţii. Firește, în aceste cazuri măsurile eugenice sînt inutilizabile. Ele pot fi folosite doar dacă purtătorii sînt fertili. După cum se ştie, în fiecare generaţie se însumează rata de mutaţie spontană cu numărul descendenţilor afectaţi.

Neel şi Schull au ilustrat această eventualitate pe baza analizei retinoblastomului, o tumoare malignă a ochiului care în absenţa tratamentului chirurgical este letală. Rata de mutaţie spontană este egală cu $2 \cdot 10^{-5}$. Prin intervenţii chirurgicale, aproape 70% dintre bolnavi sînt salvaţi. Fiind vorba de indivizi fertili, mutaţia se va transmite descendenţilor. Cum mutaţia este dominantă, frecvenţa ei va creşte cu încă 5%. În aceste condiţii, incidenţa bolii va ajunge la $3{,}08 \cdot 10^{-5}$. În mutaţiile dominante, eugenia poate să aducă o scădere a frecvenţei mutaţiilor în prima generaţie, cu condiţia ca toţi purtătorii să fie depistaţi, iar măsurile luate să fie eficiente. Oricum, timp de cîteva generaţii incidenţa bolii va fi dată de un număr oarecare de bolnavi nedepistaţi, care au transmis mutaţia, precum şi de noile mutaţii spontane. Este evident că în această împrejurare, cea mai favorabilă pentru eugenie, există o serie de greutăţi deosebit de mari, care limitează valoarea măsurilor folosite. Dintre acestea amintim imposibilitatea de a descoperi toţi purtătorii, faptul că unele gene au penetranţă incompletă, cît şi apariţia de noi mutaţii.

Dacă teoretic se poate presupune că măsurile eugenice ar duce la scăderea mutaţiilor dominante, eficienţa lor este însă aproape nulă faţă de mutaţiile recesive. S-a demonstrat statistic că pentru o genă a cărei frecvenţă este de 1/10 000, frecvenţă obişnuită pentru multe gene recesive, nu se poate obţine — indiferent de mijloacele folosite — o scădere mai mare de 2% pe generaţie. O asemenea diminuare este extrem de mică.

Scanned with OKEN Scanner

Se pare că ceva mai ușor s-ar putea obține scăderea frecvenței mutațiilor legate de sex. Ea presupune o sterilizare a tuturor bărbaților afectați, a tuturor descendenților săi de sex feminin, precum și a surorilor lui ipotetic purtătoare.

În concluzie, eugenia activă nu poate să aducă decît rezultate minime, care nu justifică marile eforturi cerute.

În toate aceste cazuri s-a plecat de la premisa că sterilizarea se va practica numai în cazul bolilor ereditare corect diagnosticate și cu mod de transmitere bine cunoscut. Nici una dintre tulburările clinice mari în care s-a cerut aplicarea sterilizării (tulburările mintale sau epilepsia) nu se supun legilor mendeliene. Se știe doar că ele au o oarecare concentrare familială. Totuși, acest fapt este insuficient pentru a impune sterilizarea afectaților.

Apariția tulburărilor psihice implică o permanentă interacțiune între genotip și mediu. Chiar în cazul în care există o predispoziție pentru o anumită boală, factorii social-economici au întîietate. Problema apariției ereditare a criminalității nu se poate pune decît pentru un număr limitat de debili mintali.

Homosexualitatea constituie un capitol neclar în genetică. Touraine a ajuns la concluzia că incidența familială a tulburării și concordanța gemenilor monozigoți homosexuali sînt insuficiente pentru a susține originea ereditară a bolii. Aproape întotdeauna rolul major revine factorilor social-economici.

Aceste observații au năruit toate speranțele eugeniei. Marea discreditare a eugeniei se datorește folosirii ei de către fasciști. În numele apărării purității rasei germanice au fost asasinați sute de mii de bătrîni și de bolnavi incurabili. Un timp numele de eugenie era considerat sinonim cu acela de asasinat legal. Acest tip de eugenie nu are însă nimic comun cu eugenia medicală. Oricum, din punct de vedere genetic măsurile promovate de diferite școli eugenice nu pot fi apărate. Rezultatele obținute în cele cîteva decenii de aplicare nu sînt demonstrative. Din această cauză eugenia a fost abandonată și în locul ei se folosesc sfaturile genetice.

Scanned with OKEN Scanner

Riscul empiric

Un mare număr de boli și de malformații congenitale nu se transmit în concordanță cu legile mendeliene. Tot ce se știe despre ele sub raport genetic este că au o variabilă incidență familială. Într-o familie în care s-a născut un copil malformat șansa ca celălalt sau ceilalți copii să manifeste aceeași anomalie este mai mare decît în familiile în care nu există încă nici un copil anormal. Pentru a aprecia șansa pe care o are un viitor copil de a manifesta aceeași malformație ca și copilul născut înaintea sa nu se mai pot utiliza calculele clasice, folosite în cazul dominanței sau recesivității mendeliene. În locul lor se aplică riscul empiric.

Riscul empiric exprimă posibilitatea de a aprecia apariția unui fenomen specific pe baza experienței anterioare. Herndon a diferențiat mai multe tipuri de riscuri empirice, fiecare tip avînd un domeniu specific de aplicabilitate. Astfel, el poate fi folosit în bolile dominante cu penetranță redusă. În aceste cazuri pentru a calcula riscul ca un descendent să manifeste o tulburare se adaugă riscul empiric.

De asemenea, este larg utilizat în bolile familiale fără etiologie binecunoscută. Acesta este un grup polimorf, condiționat și de factorii de mediu și de factorii genetici.

Riscul empiric se aplică în special în tulburările psihice. În prezent se remarcă o creștere continuă de copii oligofrenici și de indivizi cu tulburări mintale grave. De cele mai multe ori originea lor este necunoscută. Se știe doar că înapoierea mintală gravă apare uneori ca o consecință a unei gene anormale în stare homozigotă. Idioția fenilpiruvică este cel mai cunoscut exemplu. La fel de importante, deși mai puțin frecvente, sînt gargoilismul și idioția amaurotică. În aceste cazuri riscul se calculează după legile mendeliene. În grupa tulburărilor mintale de etiologie necunoscută posibilitatea ca un descendent să facă aceeași boală ca și părinții sau frații săi se calculează cu ajutorul riscului empiric.

Scanned with OKEN Scanner

PROBABILITATEA REAPARIȚIEI MALFORMAȚIILOR CONGENITALE SPECIFICE ÎN SARCINI SUCCESIVE ÎN FAMILII ÎN CARE S-A NĂSCUT UN COPIL CU ACEASTĂ MALFORMAȚIE

Tipul de malformație	Anencefalie	Spină bifidă	Hidrocefalie	Buză de iepure cu sau fără fantă palatină	Fantă palatină fără buză de iepure	Stenoză pilorică	Picior strîmb	Dislocația congenitală a șoldului
Frecvența la naștere în populația generală	0,2	0,3	0,2	0,1	0,04	0,3	0,1	0,1
Șansa de reapariție cînd ambii părinți sînt normali	2,1	3,9	1,6	4,0	1,8	4,0	5,0	5,0
Șansa de reapariție cînd unul din părinți este afectat	—	—	—	14,0	17,0	—	10,0	10—15

Valorile riscului empiric diferă de la un autor la altul. Astfel, Akesson a găsit că în Suedia riscul empiric pentru frații și surorile probantului variază între 1,6% și 5,6% pentru deficiențele grave, și între 3,6 și 12,4% pentru deficiențele mintale ușoare. După Böök, riscul empiric pentru ceilalți membri ai fratriei probantului este de $9,7 \pm 1,9$, iar după Hallgren și Sjögren, de $8,4 \pm 0,9\%$. Ambele valori se întîlnesc în familiile copiilor cu tulburări mintale reduse. Riscul crește considerabil dacă unul dintre părinți este afectat, fiind de $15 \pm 40\%$. Cînd ambii părinți sînt înapoiați mintal riscul se dublează. Riscul empiric este mare și în schizofrenie. În familiile în care unul dintre părinți este afectat, fiecare copil are o șansă din șase de a fi afectat. Dacă părinții sînt indemni și unul dintre frați este schizofrenic, orice viitor copil are 7% șanse să fie schizofrenic.

Scanned with OKEN Scanner

Riscul empiric se folosește frecvent în genetica medicală. Valoarea lui este însă redusă. Același risc variază de la o familie la alta și de la o populație la alta. Ca atare, deși riscul mediu poate să rămînă același, reapariția unei malformații în unele familii poate fi frecventă, iar în altele foarte rară. Acesta este riscul actual, care niciodată nu poate fi apreciat cu exactitate. În realizarea acestei inegale incidențe intervin uneori și factorii de mediu. Multe tulburări sînt fenocopii, dar, neputînd fi diferențiate de tulburările de origine genetică asemănătoare, sînt considerate ca expresie a unei tulburări unice.

Iată de ce riscul empiric este primit cu foarte multe rezerve și nu poate fi utilizat decît de geneticieni.

Profilaxia malformațiilor congenitale determinate de anomalii cromozomiale

Profilaxia anomaliilor cromozomiale este foarte grea, pentru că încă nu se știe care sînt factorii mutageni. Se crede, așa cum s-a remarcat de nenumărate ori, că radiațiile ar putea constitui un factor mutagen important. Cîteva cercetări efectuate însă printre mamele care au născut copii cu sindrom Down nu au putut confirma existența acestui fenomen. Aceasta nu înseamnă că el nu există. Rămîne certă creșterea frecvenței anomaliilor cromozomiale o dată cu înaintarea în vîrstă a părinților. Implicațiile profilactice sînt evidente. Trebuie reamintit că riscul de a avea un copil cu trizomie 21 este mult mai mare în jurul vîrstei de 40 de ani, decît la 20—25 de ani.

Mamele cu trizomie 21 sînt de obicei sterile. Dacă însă în mod excepțional rămîn însărcinate, atunci fiecare copil are 50% șanse de a fi afectat.

O atenție deosebită trebuie acordată mamelor tinere care au copii cu sindrom Down. În aproape 10% din cazuri ele sînt purtătoarele unei translocații 13—15/21. Mai rar purtătorul unei translocații este tatăl. În aceste cazuri riscul poate fi stabilit după tabelul alăturat.

Scanned with OKEN Scanner

RISCUL APARIȚIEI COPIILOR CU SINDROM DOWN, ATUNCI CÎND PĂRINȚII SÎNT PURTĂTORII UNEI TRANSLOCAȚII (DUPĂ A. G. MOTULSKY – F. HECHT)

Cariotipul copilului mongol	Cariotipul părinților		Copil mongoloid		Riscul per sarcină. Copil normal fenotipic, purtător al translocației	
	tatăl	mama	%	ratio	%	ratio
Translocație D/G	purtător	normal	2	1/48	60	22/36
	normal	purtătoare	30	24/84	33	26/74
	normal	normal	mic	0/10		probabil mic
Translocație G/G 21/22	purtător	normal	mic	0/12	50	5/12
	normal	purtătoare	mic	0/3	apreciabil	3/3
Probabil translocație 21/21	purtător	normal	100	6/6	0	
	normal	purtătoare	100	6/6	0	
Translocație G/G	normal	normal	mic	0/6		Probabil mic

Ratio indică datele care au dus la estimarea riscului empiric. Propoziti au fost excluși.

De multe ori medicina legală trebuie să rezolve probleme deosebit de complexe. Una dintre acestea este excluderea paternității. Elucidarea acestei probleme reclamă folosirea unui întreg arsenal de metode. Se studiază comparativ caracterele morfologice externe (analiza polisimptomatică) ale tatălui ipotetic și ale copilului. Pentru stabilirea diagnosticului sînt foarte valoroase anomaliile sau particularitățile cu caracter dominant întîlnite la tatăl prezumtiv și la copil. Pentru a fi semnificative însă, ele trebuie să lipsească la mamă.

Scanned with OKEN Scanner

Dar asemănarea fizică nu poate constitui un criteriu sigur pentru a stabili paternitatea. Expertiza trebuie să se bazeze pe analiza unor caractere genetice cu mod de transmitere bine-cunoscut și ușor de interpretat. Această condiție o îndeplinesc diversele grupe sanguine. Analiza lor nu este suficientă pentru a confirma paternitatea, dar este suficientă pentru a o exclude.

Grupa sanguină		Tatăl poate fi	Tatăl nu poate fi
Copilul	Mama		
O	A	A B O	AB
	B	A B O	AB
	O	A B O	AB
A	A	A—B—AB—O	—
	B	A—AB	B—O
	AB	A—B—AB—O	—
B	A	B—AB	AO
	B	A—B—AB—O	—
	AB	A—B—AB—O	—
	O	B—AB	A—O
AB	A	B AB	AO
	O	A AB	B O
	AB	A B—AB—O	—
M	M	M—MN	N
	MN	M—N—MN	—
N	N	N—MN	M
	MN	N—MN	M
MN	MN	M—N—MN	—
	M	N—MN	M
	N	M—MN	N

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

Aird, I., H. Bentall, R. J. A. Fraser, „Brit. Med. J.", 1953 vol. 1, p. 799.

Akesson, H. O., „Acta Genet. Basel.", 12, 1962, 28.

Alexander, W., „Brit. J. exp. Path.", 2, 1921, 66.

Carter, C. O., *Human Heredity,* Penguin Books, 1962.

Cuénot, L. „Verh. Naturf. Verein Brünn", 1911, 49.

De Toni, G., „Panminerva Medica", 3, 1962, 101.

Dobzhansky, Th., *Evolution Genetics and Man.* N. Y. J. Wiley, 1955.

Dodinval, P., „J. Genet. Hum.", 16, 1961, 401.

Dossena, G., V. Lanzara, „Ann. Obstet. Ginec.", 47, 1925, 163.

Eisenberg, H., R. A. Greenberg, R. Jesner, „J. chronic. Dis.", 8, 1958, 342.

Hadorn, E., „Arch. Klaus. Stift. Vererb. Forsch.", 20, 1945, 82.

Harris, H., *Human Biochemical Genetics,* Cambridge, 1959.

Herskowitz, I. H., *Genetics*, Little Brown Comp. Boston-Toronto, 1962.

Ioaniţiu, D., I. Florea, C. Maximilian, „Rev. Roum. End.", 1965.

Jennings, D., R. H. Balme, J. E. Richardson, „Lancet", 2, 1956, 11.

Manuila, A., *A B O blood groups and Disease,* Ed. Inst. Ge. Mendel, Roma, 1961.

Motulsky, A. C., F. Hecht, „Am. J. Obst. Gynec.", 90, 7/2, 1964, 1227.

Masterson, J. G., „Acta Genet.", Basel, 11, 1962, 219.

Maximilian, C., „Viaţa medicală", 1965, 19.

Mayr, E., L. K. Diamond, R. P. Levine, M. Mayr, „Science" 124, 1956, 932.

Milcu, St. M., C. Maximilian, „Fiziol. norm. pathol.", 1963.

Milcu, St. M., C. Maximilian, M. Ciovirnache, „XVIIIth Congr. Anthrop"., Brno, 1965.

Moraru, I., St. Antohi, *Introducere în genetica moleculară,* Editura Medicală, Bucureşti, 1964.

Scanned with OKEN Scanner

19

Selecția naturală în patologie

Bolile umane nu sînt uniform răspîndite pe suprafața pămîntului, ci diferă de la o regiune la alta.

În mod obișnuit, bolile ereditare reprezintă un procent destul de mic din totalul bolilor unei populații. Numai în mod excepțional frecvența lor este mare sau relativ mare. Aceasta se datorește faptului că numai rareori mutațiile sînt beneficiare. Se poate întîmpla însă ca o mutație să fie utilă pînă la un anumit punct. În acest caz, între cele două alele se creează o stare de echilibru.

În felul acesta apar trăsături normale sau patologice cu caracter discontinuu. Numărul acestor trăsături este probabil foarte mare. Pînă acum se cunosc însă numai cîteva: grupele sanguine (A, B, O, MNS, Rhesus, Kell, Duffy, Kidd, Diego etc.), proteinele serice (haptoglobinele, transferinele, gammaglobulinele, beta-lipoproteinele etc.). Acestor două categorii majore li se mai pot adăuga glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza, hemoglobinele, sensibilitatea la PTC etc.

Aceste caractere constituie fenomenul de polimorfism. El a fost definit de Ford (1954) ca reprezentînd apariția în același habitat a două sau mai multe forme discontinue ale unei specii, într-un asemenea număr încît formele cele mai rare nu pot fi menținute doar prin mutații.

Polimorfismul se datorește diferențelor selective dintre genotipuri sau, cu alte cuvinte, faptului că purtătorii unor anumite gene vor supraviețui un număr diferit de ani.

Menținerea polimorfismului este posibilă numai dacă presiunea de selecție rămîne constantă și dacă heterozigoții sînt mai avantajați decît homozigoții.

Presiunea de selecție se modifică de obicei o dată cu schimbarea condițiilor de mediu.

A doua condiție nu este decît rareori întîlnită la om. Cel mai cunoscut exemplu îl constituie hemoglobina S.

Scanned with OKEN Scanner

Hemoglobina normală este formată din două lanțuri polipeptidice α și două lanțuri β. Sinteza lor este condiționată de două perechi de gene structurale. Fiecare lanț conține, în medie, ceva mai puțin de 150 de aminoacizi într-o succesiune riguros exactă. Este suficient ca un singur aminoacid să fie înlocuit cu un altul pentru ca structura și funcția hemoglobinei să se schimbe. Astfel, dacă în lanțul α al hemoglobinei normale A o moleculă de acid glutamic este înlocuită cu valina, apare o nouă hemoglobină, hemoglobina S.

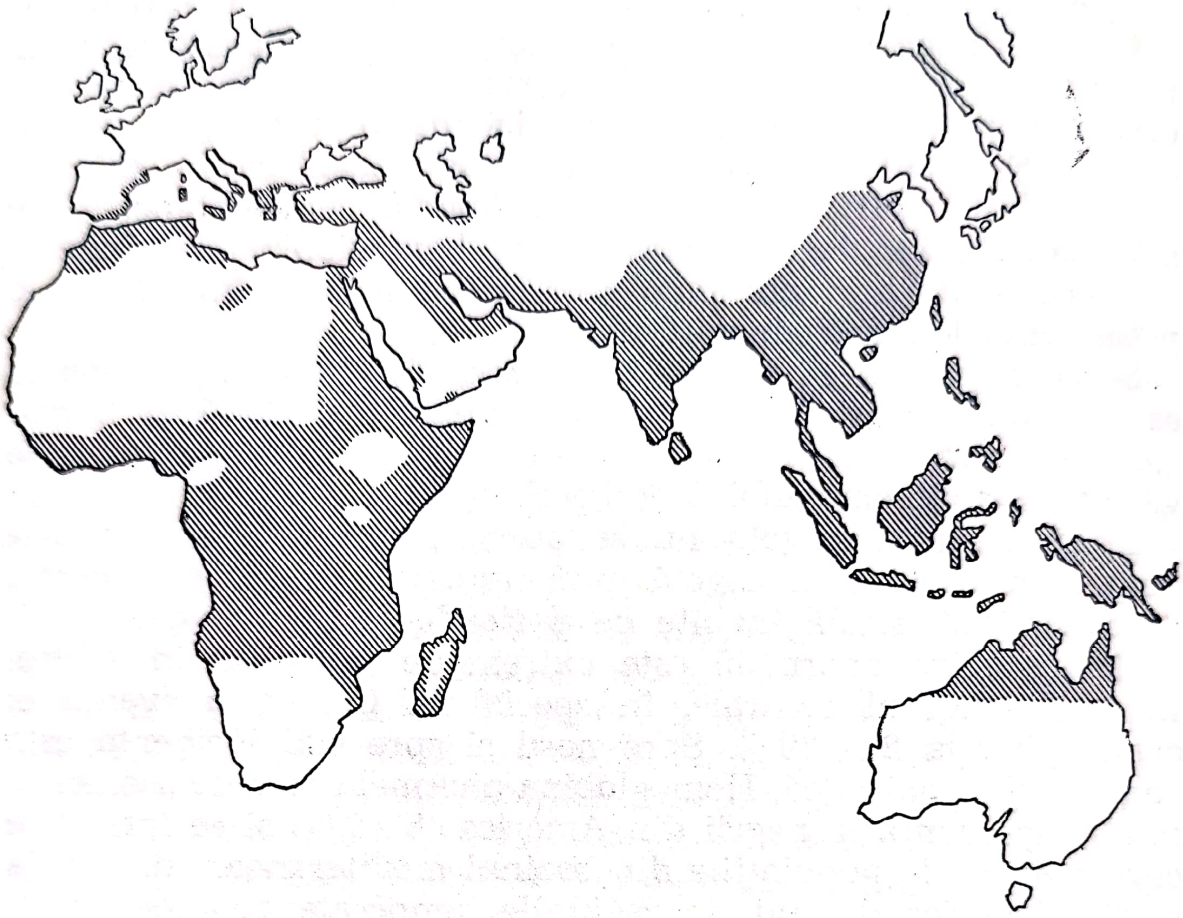
S-a demonstrat că la purtătorii acestei mutații hemoglobina este de două feluri: 30—40% hemoglobină S și 60—70% hemoglobină normală A. La homozigoții pentru această mutație se găsește numai hemoglobină de tip S.

În starea heterozigotă nu se observă tulburări clinice evidente. În stare homozigotă însă mutația determină anemia drepanocitară, letală înainte de perioada de reproducere.

Hemoglobina anormală este extrem de frecventă în Africa. În unele regiuni centrale, în special în Congo, frecvența ei crește pînă la 20—30%. Spre nord și spre sud incidența este considerabil mai mică. Hemoglobina anormală este de asemenea relativ frecventă la negrii din America (8—9%) și se întîlnește ceva mai rar la populațiile din bazinul mediteranean, din India și din America de sud. În regiunile temperate aproape că nu se cunoaște.

Pentru a explica acest fenomen neobișnuit s-au emis mai multe ipoteze. Una dintre acestea presupune că hemoglobina S s-ar datora mutației, ceea ce este imposibil de conceput. Pentru a se păstra o asemenea incidență, considerînd că o dată cu fiecare homozigot anormal sînt eliminate din populație două gene, ar trebui să existe o rată de mutație foarte mare, de 0,3%. Or, rata obișnuită de mutație pentru cele mai multe gene este de $1 \cdot 10^{-5}$. Apoi nu s-ar putea explica de ce există diferențe geografice atît de mari.

A doua ipoteză admite ca explicație selecția matrimonială. Dacă alegerea soțului nu se face la întîmplare ci se căsătoresc selectiv parteneri cu gene anormale, frecvența genei pentru hemoglobina S este ridicată. Ipoteza a fost analizată de Bianco (1952) pentru microcitemie. Teoretic, homogamia nu poate fi exclusă, deoarece bolnavii prezintă caractere particulare —



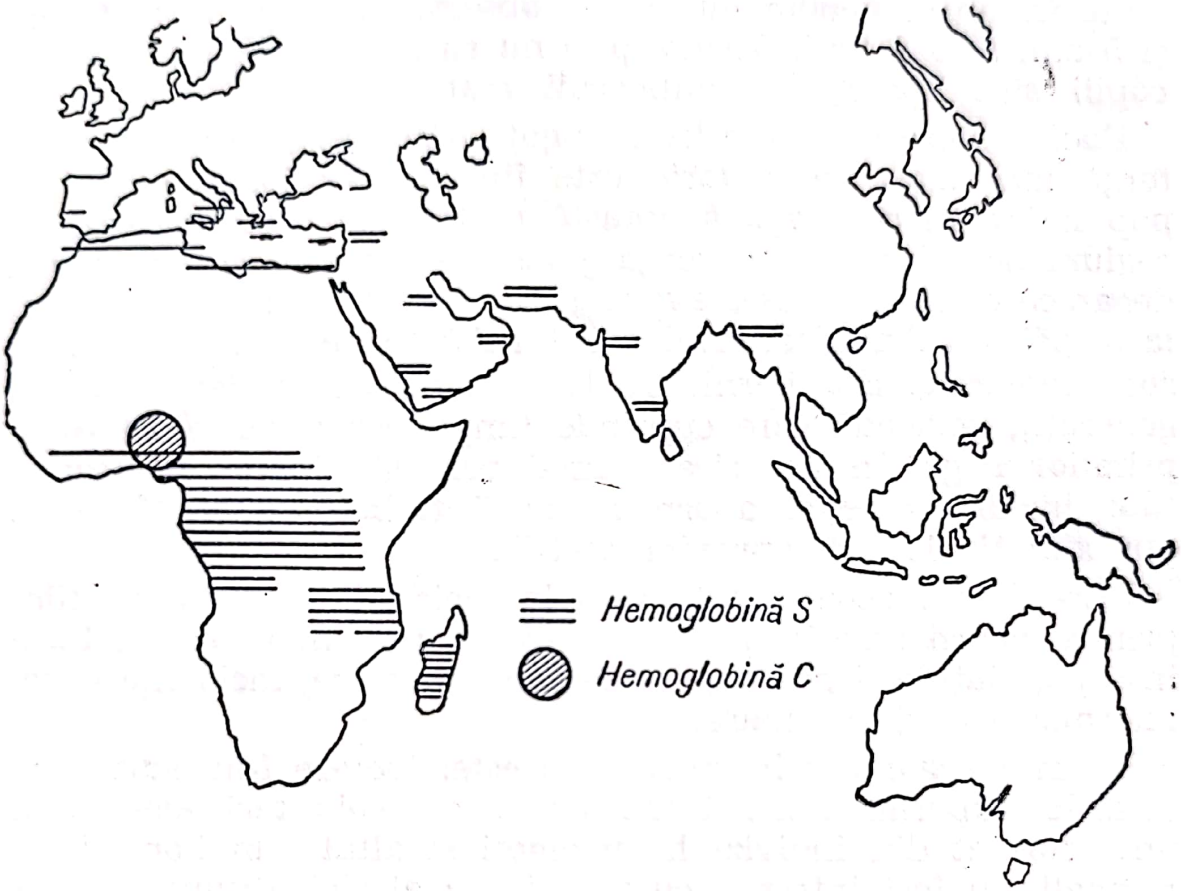
91. Distribuţia malariei (Boyd, 1949)

paloare, facies mongoloid etc. Cercetările întreprinse în acest sens au arătat însă că uniunile se fac la întîmplare. Ca atare, ipoteza nu este fundamentată.

O altă ipoteză admite că răspîndirea inegală a mutaţiei se datoreşte segregaţiei neregulate sau nondisjuncţiei preferenţiale. Acesta este un fenomen cunoscut la animale şi doar în mod excepţional şi la om. În spiritul acestei ipoteze, animalele care poartă o mutaţie produc mai mulţi spermatozoizi purtători ai aceleiaşi mutaţii decît animalele indemne. Nici această ipoteză nu a putut fi demonstrată.

Explicaţia cea mai plauzibilă a fost dată în 1954 de Allison. El a remarcat că această genă este răspîndită în regiunile cu malarie endemică puternică (malaria falciparum). În zonele în

Scanned with OKEN Scanner



92. Distribuţia hemoglobinei S şi C

care malaria se întîlneşte rar, incidenţa mutaţiei este foarte mică. În zonele temperate, unde această formă de malarie lipseşte este absentă şi gena anormală. În mod firesc, el a presupus că ar putea să existe o relaţie directă între frecvenţa genei pentru hemoglobina S şi intensitatea malariei. Ipoteza a fost verificată apoi de numeroase cercetări.

Astfel, Allison a arătat că în aceste condiţii heterozigoţii sînt avantajaţi faţă de homozigoţii normali şi, bineînţeles, faţă de homozigoţii pentru gena anormală. Acest avantaj constă în aceea că heterozigoţii mor mai rar de malarie în copilărie decît homozigoţii normali, cît şi în faptul că aceştia au o rată de reproducere de 1,26 de ori mai mare decît a indivizilor normali. Faptul că heterozigoţii mor mai rar în copilărie pare să fie explicat şi de rata mai mică de paraziţi care se pot dez-

Scanned with OKEN Scanner

volta în sînge. Fenomenul a fost observat la copii între 6 luni şi 5 ani. Sub 6 luni, observaţiile nu sînt concludente, deoarece copiii sînt apăraţi de anticorpii materni.

Dacă ipoteza că starea heterozigotă oferă purtătorilor o rezistenţă mai mare la malarie este într-adevăr justă, atunci la populaţiile în care există această mutaţie şi care migrează în regiuni neendemice, frecvenţa genei trebuie să scadă continuu, deoarece ea nu mai este avantajoasă. Fenomenul a fost studiat la negrii din America, originari din Africa de sud, unde există zone malarice. S-a pornit de la premisa că în decurs de 12 generaţii, perioadă care cuprinde timpul scurs de la aducerea primilor negri în America, numai prin eliminarea homozigoţilor incidenţa genei anormale ar fi trebuit să scadă de la aproximativ 40%, la aproximativ 9%.

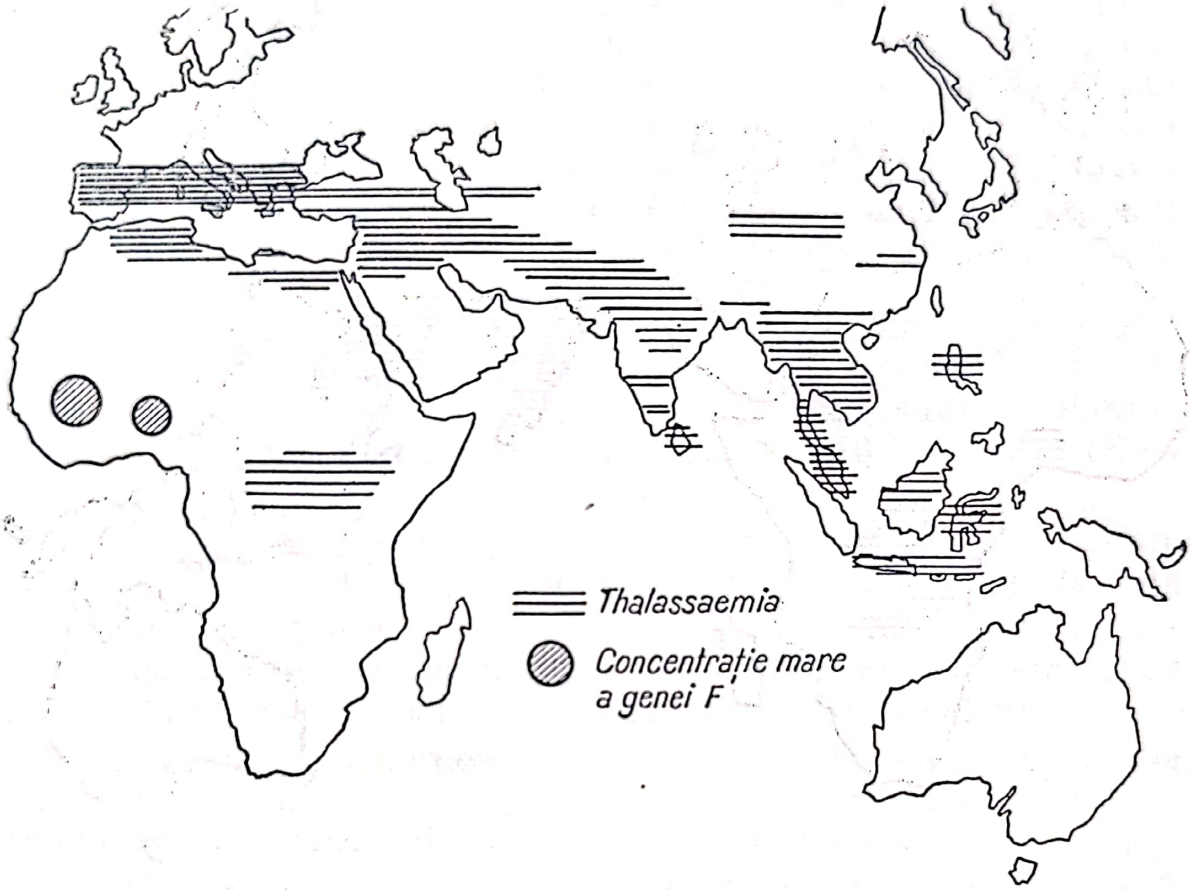
Într-adevăr, aceasta este actuala incidenţă a heterozigoţilor printre negrii americani care trăiesc în regiuni indemne. Dacă însă populaţiile negre populează zone malarice, incidenţa genei anormale este foarte mare.

Ultimul argument în sprijinul acestei ipoteze l-au adus cercetările experimentale. Două loturi de voluntari americani, unul format din indivizi heterozigoţi şi altul din homozigoţi normali, au fost infectaţi cu parazitul malariei. Primul lot era format din 15 negri heterozigoţi, iar al doilea din 15 negri homozigoţi normali. Din primul lot au făcut boala doar doi indivizi, iar din lotul al doilea 14 indivizi. Datele sînt cu totul concludente. Experienţa repetată însă de Beutler în 1952 a dat rezultate mai puţin semnificative.

Aceste observaţii sînt suficient de numeroase şi de bine fundamentate pentru a susţine ipoteza că gena pentru hemoglobina S conferă purtătorilor heterozigoţi o rezistenţă crescută faţă de malarie.

Avantajul heterozigoţilor a fost explicat şi pe baze biochimice. Se ştie, de pildă, că dezvoltarea parazitului în celulele roşii ale organismului uman este rezultatul unei îndelungate adaptări. Dacă sistemele metabolice ale eritrocitelor sînt modificate, atunci dezvoltarea parazitului va fi mai puţin intensă. Aşa se întîmplă în cazul hemoglobinei S şi al altor hemoglobinopatii.

Scanned with OKEN Scanner



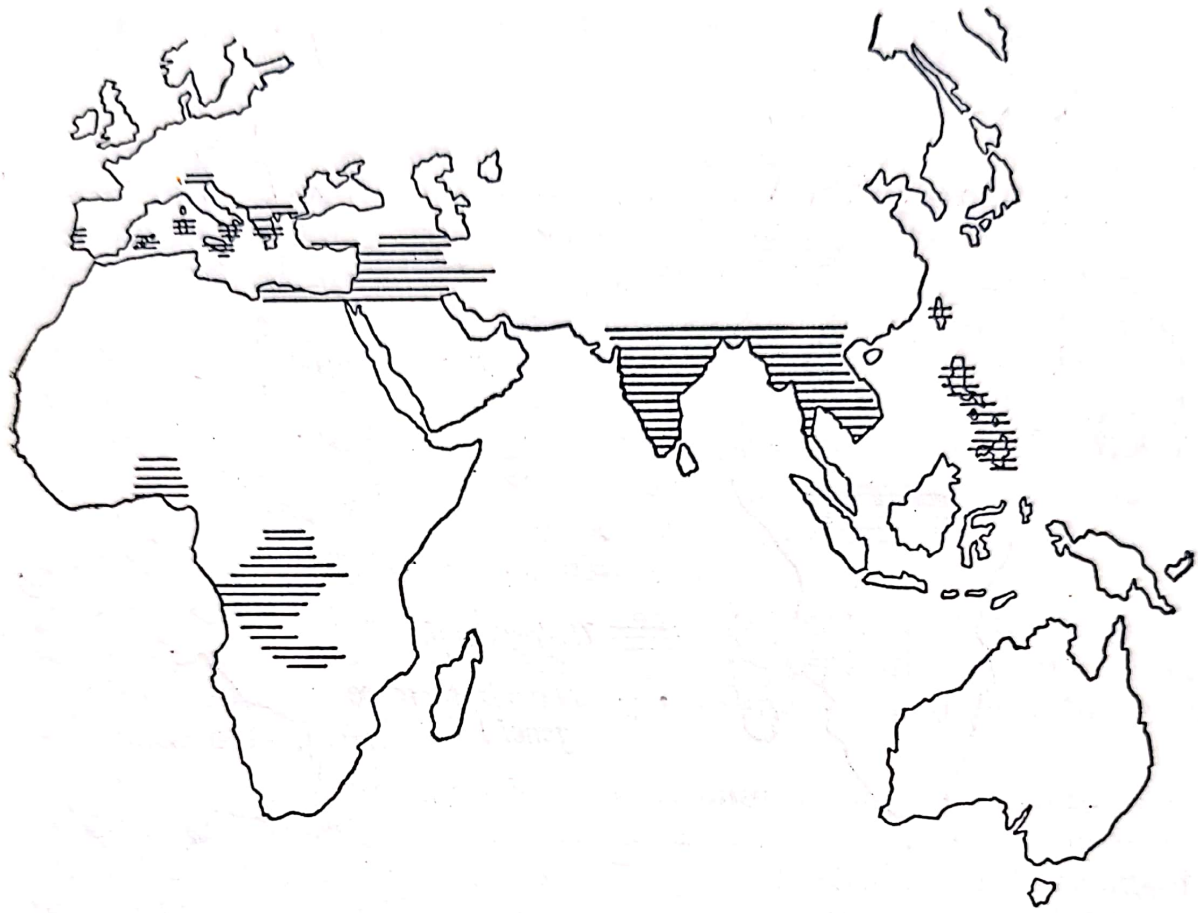
93. Distribuţia talasemiei (Chernoff, 1959)

Talasemia sau anemia microcitară, boală determinată de un cuplu de alele autozomale *M* şi *m* (Th şi th) (*m* = gena normală şi *M* gena pentru hemoglobina anormală), are un maxim de răspîndire în zonele malarice din bazinul Mării Mediterane, îndeosebi în Sardinia, Portugalia, Spania, Italia, Grecia. A mai fost găsită în Asia (Cambodgea, Malaiezia, Indonezia, Filipine).

Ca şi în cazul anemiei cu celule falciforme, homozigoţii anormali mor de obicei înainte de perioada de reproducţie. În general, heterozigoţii prezintă tulburări variate. În acest caz, gena se transmite dominant autozomal, boala apărînd astfel la homozigoţii pentru gena anormală.

După toate probabilităţile, hemoglobina C are o acţiune asemănătoare cu cea a hemoglobinei S. Întrucît toate hemoglobi-

Scanned with OKEN Scanner



94. Distribuţia deficienţei glucozo-6-fosfatdehidrogenazei

nele anormale au efecte similare, răspîndirea lor în zonele endemice poate fi diferită. În unele regiuni predomină hemoglobina S (de pildă, în Africa), în altele, talasemia (ca în Sardinia) sau hemoglobina C (ca în Liberia).

Totuşi, se pare că protecţia pe care o conferă organismului aceste hemoglobinopatii este inegală. Cea mai slabă pare să fie talasemia. În 1964, Stamatoiannopoulos presupune că în menţinerea frecvenţei talasemiei, în afară de malarie, mai intervin şi alţi factori mezologici încă necunoscuţi.

Mai puţin clară este relaţia dintre deficienţa enzimei glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza şi malarie.

Enzimopatia determinată de o mutaţie cu transmitere dominantă legată de sex a fost descoperită la negrii americani. După administrarea unor medicamente antimalarice cunoscute

Scanned with OKEN Scanner

în general prin acțiunea lor inofensivă, purtătorii enzimopatiei dezvoltă o anemie intensă, dar trecătoare. Mai tîrziu s-a remarcat că numărul medicamentelor cu efecte similare este relativ mare. Consecințe cu totul asemănătoare are și ingestia sau chiar inhalarea de vapori de *Vicia fava* (favismul). Această tulburare se întîlnește îndeosebi în Africa centrală, în bazinul mediteranean, în India, sudul Chinei și Filipine, deci în regiuni cunoscute prin endemicitatea lor malarică. În ultima vreme s-a remarcat că uneori există o relație proporțională între gradul de endemicitate și frecvența mutației. În Noua Guinee, de pildă, endemicitatea scade de la litoral spre munte. Paralel scade și incidența genei anormale de la $> 0{,}10$ la $< 0{,}01$ (Kidson, 1962).

Pornind de la aceste date, Motulsky presupune că frecvența este determinată de gradul de protecție pe care-l acordă față de malaria falciparum. Într-adevăr, Allison a reușit să demonstreze că densitatea parazitului este mai mică la copiii cu deficiență glucozo-6-fosfatdehidrogenazei decît la cei normali.

Prin metode biochimice s-a demonstrat de asemenea că la purtătorii acestei mutații apar tulburări în metabolismul eritrocitelor, care sînt nefavorabile dezvoltării parazitului.

Un alt exemplu demonstrativ de polimorfism echilibrat îl constituie grupele sanguine. Se știe de multă vreme că frecvența acestora variază de la o populație la alta. În antropologia clasică se presupunea că distribuția grupelor sanguine se datorește originii rasiale diferite a populațiilor. În spiritul aceleiași ipoteze, se presupune că populațiile cu frecvențe similare au aceeași origine. Pentru ca această ipoteză să fie valabilă ar trebui ca grupele sanguine să nu fie supuse acțiunii selecției naturale. Or, prima indicație că grupele sanguine nu sînt neutre este tocmai răspîndirea lor inegală.

Modul în care intervine selecția naturală este variat. Astfel, Vogel susține ipoteza că răspunsul indivizilor la anumite infecții este condiționat de grupa lor sanguină. Presupunerea pornește de la cercetările lui Pettenkofer, care a arătat că unele microorganisme au un antigen asemănător grupelor sanguine. De pildă, microbul pestei are un antigen similar antigenului H, iar variola, un antigen asemănător antigenului A.

Scanned with OKEN Scanner

În cazul unei epidemii de variolă indivizii cu grupa sanguină A vor fi mai puțin rezistenți la boală, deoarece nu produc anticorpi anti A. În acest caz vor fi avantajați indivizii din grupa O sau B, iar în epidemiile de pestă, indivizii din grupele A și B.

Ipoteza este plauzibilă, deoarece în sudul Asiei, unde ciuma și variola sînt endemice, se observă o creștere a frecvenței grupei B. De asemenea, se pare că distribuția specifică a grupelor sanguine la populația autohtonă din America se datorește aceluiași mecanism.

Unii autori presupun că distribuția variată a grupelor sanguine ar putea fi determinată și de incompatibilitatea materno-infantilă. Cercetările mai vechi ale lui Waterhouse și, mai noi, ale lui Matsunaga au arătat că în uniunile OxA (mama de grupă O și tatăl de grupă A) se observă că numărul de copii cu grupă A este foarte scăzut (25%). De asemenea, în căsătoriile unde mama este de grupa O și tatăl de grupa B numărul de copii de grupă B este cu 18% mai mic decît cel apreciat teoretic. Multe dintre femeile din grupa O au un număr crescut de avorturi.

Aceste date au dus la ipoteza că incompatibilitatea sanguină ar putea modifica frecvența grupelor sanguine. Dar ipoteza trebuie admisă totuși cu rezerve, deoarece cercetările respective au fost făcute pe serii prea mici.

Mai puțin important — dacă cumva există — este rolul bolilor neinfecțioase, al ulcerului gastric, al cancerului gastric sau al anemiei pernicioase. Se pare că există o asociere între ulcer, cancer și grupele sanguine O și A. Chiar dacă această asociere este reală, indivizii cu ulcer sînt fertili, iar indivizii care fac cancer și-au terminat perioada reproductivă, așa încît avantajul selectiv al grupei B este redus.

La fel de complexă este și problema răspîndirii inegale a grupei Rh.

În 1940, Landsteiner și Wiener au remarcat că iepurii injectați cu sînge de la maimuța *Maccacus rhesus* produc anticorpi care aglutinează sîngele acestei maimuțe. Totodată acești anticorpi aglutinează și sîngele la aproximativ 80% dintre oameni

Scanned with OKEN Scanner

(cu Rh-pozitiv). Numai în mod excepțional se întîlnesc populații la care frecvența sistemului Rh-negativ este mai mare decît a sistemului Rh-pozitiv, ca de pildă la basci, la cîteva izolate europene și la cîteva grupuri din Africa de nord și din Sahara.

Explicația acestui fenomen este insuficient cunoscută. Se presupune că el ar fi rezultatul selecției. Ipoteza a plecat de la faptul că unul din 500—1 000 de nou-născuți prezintă o anemie gravă, uneori mortală. Acești copii sînt Rh-pozitivi, ca și tații lor. Mamele sînt Rh-negative. În timpul vieții intrauterine, cantități mici de celule fetale Rh-pozitiv pătrund în circulația maternă. Ca răspuns, mamele produc anticorpi care pătrund prin placentă și aglutinează globulele roșii ale fătului.

Cu fiecare copil care moare sînt eliminate două gene: *R* și *r*. Deoarece alela *r* se întîlnește mai rar, ea este defavorizată și frecvența ei tinde să scadă. Dacă se adaugă și *geneticdrift*-ul, ea poate chiar să dispară, așa cum s-a întîmplat la australieni.

În acest caz, selecția favorizează homozigoții, în timp ce în cazul hemoglobinelor anormale sînt favorizați heterozigoții.

Descoperirea efectului protector al hemoglobinopatiilor și al glucozo-6-fosfatdehidrogenazei față de bolile infecțioase a constituit prima dovadă că răspîndirea bolilor nu este condiționată exclusiv de rata de mutație.

Desigur, mutația reprezintă procesul fundamental. Răspîndirea sau eliminarea ei depinde de acțiunea selecției naturale. Se poate întîmpla, așa cum a arătat studiul relației dintre hemoglobinopatii și malarie, ca o mutație dezavantajoasă să atingă frecvențe excepțional de mari numai datorită faptului că efectele ei nocive sînt mai puțin grave decît consecințele unei infecții față de care are acțiune protectoare.

Pornind de la aceste premise, s-a emis ipoteza că multe boli recesive a căror răspîndire nu poate fi atribuită exclusiv mutațiilor, cum sînt fibroza chistică a pancreasului, fenilketonuria sau diplegia spastică, ar putea fi explicate prin avantajul selectiv al heterozigoților.

În această categorie de boli intră și schizofrenia. Cercetările de genetică sugerează că această importantă tulburare nervoasă se datorește unei gene dominante cu penetranță redusă. Frec-

Scanned with OKEN Scanner

venţa bolii este foarte mare, de 1%. În mod cu totul excepţional poate atinge valori şi mai mari. Astfel, într-un izolat din Suedia, Böök a găsit o frecvenţă de 3%. Evident, pentru a explica această frecvenţă nu este suficientă numai apariţia mutaţiilor. Analizînd acest fenomen, Huxley a remarcat că frecvenţa mare nu poate fi atribuită nici fertilităţii ridicate a afectaţilor. În comparaţie cu seriile normale, schizofrenicii au mai puţini copii (70%). De aceea, trebuie să intervină un alt mecanism care să asigure heterozigoţilor un avantaj selectiv.

În 1964, Huxley admite existenţa a două avantaje pe care le-ar conferi starea heterozigotă. Primul ar fi de natură fiziologică şi ar consta în aceea că purtătorii au rezistenţă mai mare la traumatisme, dureri şi îndeosebi la infecţii.

Al doilea se referă la posibilitatea ca schizofrenicele să aibă o fertilitate crescută. Bărbaţii schizofrenici se căsătoresc de obicei rar. Ca atare fertilitatea lor este redusă. Dacă însă femeile afectate au un grad de fertilitate puţin mai mare decît cel al femeilor normale, atunci ele pot compensa deficitul de descendenţi al bărbaţilor. Ipoteza nu a fost însă studiată.

Dacă presupunerea că starea heterozigotă oferă purtătorilor un avantaj faţă de bolile infecţioase ar fi justă, atunci ar însemna că o dată cu scăderea bolilor infecţioase ar trebui să scadă şi frecvenţa purtătorilor. Deocamdată este greu să se găsească argumente în sprijinul acestei ipoteze, deoarece cele mai multe boli infecţioase au dispărut în multe ţări de-abia în ultimele decenii.

Ar fi hazardat însă să se presupună că intervenţia activă a selecţiei naturale constituie singurul mecanism care poate să explice răspîndirea inegală a bolilor ereditare. În unele cazuri marea răspîndire a mutaţiilor ar putea fi consecinţa slabei eficienţe a selecţiei. Fenomenul a fost studiat în diabetul zaharat.

Diabetul zaharat este una dintre cele mai frecvente boli contemporane. La New York, de pildă, incidenţa bolii este de 3,20%. Se pare că aceasta este valoarea maximă. În alte părţi ale lumii frecvenţa este mult mai mică, şi anume de 0,26%

Scanned with OKEN Scanner

în Islanda și de 0,10% în Rhodesia de Sud. Modul de transmitere a bolii este incert. După toate probabilitățile se transmite recesiv autozomal. Riscul de a face boala este foarte mare. După Hanssen (1946), orice individ care trăiește 80 de ani în Suedia are 8% șanse să devină diabetic.

Pentru a explica frecvența diabetului, și mai ales creșterea lui continuă, în 1956 Aschner și Post au studiat numărul de descendenți în familiile de diabetici și în serii-martor. Ei au remarcat că atunci cînd unul sau ambii părinți sînt diabetici, numărul descendenților este mai mare decît în seria-martor. De aceea s-a presupus că purtătorii prezintă un avantaj selectiv. Concluziile lor au fost însă criticate de Harvald și Hauge în 1963.

Pentru a stabili dacă această incidență se datorește într-adevăr avantajului selectiv al heterozigoților, Harvald și Hauge au urmărit numărul de descendenți la gemenii diabetici. Cercetarea a scos în evidență două fapte importante: gemenii diabetici au un număr de copii ceva mai mic decît gemenii nediabetici. Așadar, nu poate fi admisă ipoteza că diabeticii au o natalitate suficient de mare pentru a explica răspîndirea bolii. Totodată s-a remarcat că în cuplurile de gemeni în care unul dintre părinți este diabetic și celălalt nu, părintele nediabetic nu are mai mulți descendenți. În ipoteza că el este heterozigot, ar trebui să aibă un număr mai mare de copii. Singura explicație ar fi acțiunea mai slabă a selecției.

Se pare că această explicație ar putea fi valabilă și pentru alte tulburări cu răspîndire mare. Astfel, în 1962, Post a atras atenția asupra distribuției inegale a daltonismului. Aceste variații nu au însă un caracter cu totul întîmplător. De pildă, la populațiile de vînători și de culegători frecvența tulburării este mică.

Astfel, la amerindienii din Brazilia ea este de 0%; la locuitorii insulelor Fiji, de 0—0,8%; la australieni, de 1,9%, la amerindienii din S.U.A., de 2,0%, iar la eschimoși, de 2,5%.

La negrii din Africa incidența este de asemenea redusă. De pildă, frecvența bolii în Congo este de 1,7%, la Buganadas, de 1,9%, în Bahutus, de 2,7%, iar în Bechuanas, de 3%.

Scanned with OKEN Scanner

La indienii din Bombay frecvența anomaliei oscilează între 1 și 2%, iar la europizi incidența crește în mod considerabil. Astfel, la turci frecvența este de 5,3%; la belgieni, de 7,4%; la germani, de 7,7%; la scoțieni, de 7,8%, la englezi, de 8,8%, la arabi, de 10,0%, la norvegieni, de 10,1%, iar la cehoslovaci, de 10,5%.

La chinezi și japonezi valorile sînt asemănătoare celor întîlnite la europeni, și anume de 6,9% și, respectiv, de 5,1%.

Pentru a explica aceste diferențe, Post pornește de la premisa că creșterea frecvenței se datorește relaxării selecției naturale. La popoarele de vînători și pescari din zilele noastre și foarte probabil și la vechile populații europene, indivizii cu vederea slabă sînt mai ușor eliminați. O dată cu dezvoltarea agriculturii a apărut și relaxarea selecției. Implicit, frecvența a crescut continuu în timp atingînd valorile actuale. Neel și Post consideră că selecția a încetat să mai acționeze asupra agricultorilor de aproximativ 4 000 de ani, pentru că altfel rata de mutație ar trebui să fie extrem de mare:

$1 \cdot 10^{-4}$/locus/generație pentru gena protan;

$3 \cdot 10^{-4}$/locus/generație pentru gena deuteron.

Cele cîteva exemple au arătat că distribuția actuală a bolilor poate fi condiționată fie de intervenția activă a selecției naturale, cu favorizarea heterozigoților față de homozigoți, fie de relaxarea selecției.

Rolul selecției naturale este în scădere. În prezent selecția își exercită acțiunea îndeosebi asupra malformațiilor congenitale.

BIBLIOGRAFIE

Allison, A. C., „Brit. Med. J.", 1, 1954, 290.

Aschner, B. M., R. H. Post, „Acta Ge. Med. Ge.". 6, 1956, 362.

Beutler, E., R. J. Dern, C. L. Flanagan, „Brit. Med. J.", 1, 1955, 1189.

Bianco, I., G. Montalenti, E. Silvestroni, M. Siniscalco, „Ann. Eug.", 16, 1952, 222.

Ford, E. B., „Biol. Rev.", 20, 1954, 73.

Scanned with OKEN Scanner

20

Metodele de cercetare în genetica umană

Omul ca obiect de studiu

Caracterul familial al bolilor a fost observat de foarte multă vreme, dar nu a putut fi interpretat decît la începutul secolului al XX-lea, o dată cu apariţia geneticii.

Un fenomen asemănător s-a petrecut şi în antropologie. Dezvoltată ca ştiinţă independentă în secolul al XIX-lea, această disciplină a început să studieze omul cu mijloacele şi în spiritul epocii respective. Aşa cum era de aşteptat, s-a remarcat imediat că există o mare variabilitate a frecvenţei şi distribuţiei diferitelor caractere folosite în raseologie. Interpretarea era însă naivă. Se admitea, de pildă, că aceste deosebiri se datoresc structurilor rasiale ale populaţiilor cercetate. Erau studiate caracterele folosite în determinările tipologice (forma şi indicele nazal, culoarea irisului şi a părului, sau prezenţa trochanterului al III-lea la diferite populaţii), fără să se ştie că aceste caractere sînt determinate de jocul mai multor gene, că modul lor de transmitere este greu de stabilit. Apoi, nu se ştia că aceste populaţii sînt compuse din populaţii mai mici, cu structuri genetice deosebite. De altfel, acest mod de cercetare este folosit de toate şcolile care nu au adoptat încă principiile genetice.

Evident, cu timpul, rezultatele cercetărilor efectuate pe această linie au intrat în impas. Din această cauză a trebuit să se renunţe la un imens material faptic şi să se înceapă studiul omului de pe fundamente noi, mai profunde.

Aşadar, se poate spune că studiul omului a început o dată cu apariţia geneticii. Desigur, omul nu este un obiect favorabil studiilor genetice. Pentru a urmări apariţia unui caracter şi a putea stabili felul cum se transmite el în cursul generaţiilor, genetica are nevoie de un material experimental care să fie permanent controlabil. Această condiţie o îndeplinesc numai animalele de laborator care se înmulţesc repede, cum sînt

Scanned with OKEN Scanner

drosofilele sau șoarecii. Totuși, și în acest caz trebuie să se aleagă animale care aparțin unor linii pure.

Există și alte greutăți pe care le întîmpină studierea omului. Una dintre acestea este imposibilitatea de a impune căsătorii între indivizi care poartă o trăsătură particulară, îndeosebi o anomalie, pentru a o urmări în generațiile următoare. Prin aceste uniuni s-ar preciza, de pildă, ce diferențe există între manifestarea heterozigotă și homozigotă a unei gene. Apoi chiar dacă o asemenea căsătorie ar avea loc, fenomenul nu ar putea fi urmărit pentru că între nașterea și reproducerea copiilor rezultați există un interval de timp mult prea mare, care deseori depășește limita de viață a observatorului.

Cu toate acestea, omul ca obiect de studiu este din ce în ce mai preferat de genetică, pentru că specia umană cuprinde un număr uriaș de indivizi, iar variabilitatea ei morfologică și patologică permite o cunoaștere amplă a caracterelor ereditare și a rolului pe care-l joacă mediul în apariția unei trăsături normale sau patologice. Metodele folosite în genetică sînt numeroase și variate.

Ancheta familială are drept scop recunoașterea caracterului ereditar al unei trăsături oarecare (normale sau patologice), urmărirea modului ei de transmitere și precizarea variabilității manifestărilor caracterului dat.

Pentru ca un caracter să fie atribuit eredității, el trebuie să apară în cadrul aceleiași familii. În ipoteza că noul caracter este patologic, riscul membrilor familiei de a fi afectați trebuie să fie mai mare decît riscul populației generale. Firește, mutațiile dominante se supun acestei condiții, dacă ele nu apar pentru prima dată la probant, dar caracterele recesive lipsesc la ascendenți și sînt variabil prezente în fratrie, adică în ansamblul de frați și de surori rezultate dintr-un cuplu dat. Natura recesivă a caracterului poate fi susținută și indirect, dacă numărul căsătoriilor consanguine este semnificativ mai mare la părinții celui care prezintă caracterul cercetat decît la restul populației, ca în cazul multor boli recesive.

La gemenii monozigoți concordanța pentru caracterul studiat trebuie să fie mai mare decît discordanța și totodată mai mare decît concordanța la gemenii dizigoți.

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, caracterul studiat trebuie să se supună uneia dintre legile mendeliene. Dacă această premisă nu poate fi demonstrată, atunci originea genetică nu poate fi infirmată, ci trebuie să se presupună și intervenţia factorilor de mediu.

Studiul epidemiologic al unei boli implică găsirea unei serii-martor, care teoretic ar trebui să fie întru totul asemănătoare grupei cercetate, cu excepţia caracterului specific. Firește, o asemenea serie nu există și nici nu va fi găsită vreodată. De aceea rezultatul acestor investigaţii au fost privite uneori cu rezervă. Într-adevăr, cercetările familiale nu sînt întotdeauna concludente. Nu orice caracter familial are origine ereditară. De multe ori în cursul fiecărei sarcini se repetă aceleași condiţii de mediu și astfel fiecare nou-născut va manifesta aceeași anomalie. Displazia de smalţ dentar, de pildă, părea o malformaţie ereditară. În ultimii ani s-a remarcat însă că mamele care au primit tetraciclină în timpul sarcinii nasc copii cu această malformaţie. Anomalia apare și la copiii care au fost trataţi cu tetraciclină imediat după naștere sau în primii ani de viaţă. Așadar, caracterul respectiv nu poate fi considerat ereditar. În acest caz, concentrarea familială se datorește dezvoltării embrionilor în condiţii mezologice asemănătoare.

De aceea cercetătorii care studiază caracterul familial al unei anomalii trebuie să aibă în vedere faptul că trăsătura respectivă poate fi condiţionată fie genetic, fie de mediu, fie de ambii factori. În această ultimă eventualitate, valoarea celor doi factori poate fi inegală, uneori fiind mai importantă ereditatea, alteori, mediul.

Pentru a susţine originea genetică a unui caracter, incidenţa familială trebuie să fie confirmată de un număr suficient de observaţii. Numai așa se poate exclude ipoteza că apariţia familială are un caracter pur întîmplător.

Scopul anchetei familiale este de a analiza amănunţit manifestările evidente sau fruste ale unei boli, precum și întreaga variabilitate a unui caracter normal. Este o sarcină foarte grea, care necesită o vastă cultură medicală și genetică. Trebuie cunoscute toate formele clinice ale unui sindrom și toate asocierile posibile. S-au raportat sindroame excepţional de rare, dar deosebit de importante, care — deși păreau provocate de o singură mutaţie —, erau în realitate rezultatul a două sau

Scanned with OKEN Scanner

mai multe mutaţii independente. Ancheta familială trebuie să caute eventualele manifestări patologice prezentate de heterozigoţi. Deseori însă ele nu pot fi detectate decît cu ajutorul unor investigaţii biochimice de mare finețe. Aplicarea acestor metode — uneori greu de executat — este totuși indispensabilă pentru lămurirea proceselor patologice.

Pentru a obţine rezultate concludente, ancheta trebuie efectuată individual, investigînd pe toţi membrii familiei. Limitarea la informaţiile pe care le oferă probantul este aproape întotdeauna insuficientă. Numeroase cercetări au arătat că imaginea patologică a familiei este mult mai bogată decît imaginea pe care a oferit-o probantul sau diverși membri din familia lui. În cazuri particulare — psihopatii, de pildă — indicaţiile sînt deseori voit eronate.

Firește, larga dispersiune a familiei, frecvent întîlnită în condiţiile societăţii contemporane, face ancheta dificilă și uneori chiar imposibilă. În acest caz se cere sprijinul unui centru de specialitate din localităţile în care se găsesc membrii familiei.

Ancheta familială implică deseori colaborarea mai multor specialiști. Dintre aceştia nu trebuie să lipsească demograful. El este acela care, cu ajutorul actelor de stare civilă, urmărește originea și ramificarea familiei cercetate. Uneori acesta poate descoperi un grad îndepărtat de consanguinitate în familia cercetată, consanguinitate pe care familia însăși o ignora. Prezenţa demografului este și mai necesară în cazul în care se studiază izolatele.

Alături de demograf este necesară prezenţa unui matematician care să analizeze statistic datele obţinute. De cele mai multe ori însă familia studiată cuprinde prea puţini indivizi pentru a fi susceptibilă de interpretare matematică. În acest caz se colecţionează pedigriurile publicate în literatură și se întocmesc astfel serii statistice.

În cercetările de genetică medicală se impune aproape întotdeauna participarea unei echipe de specialiști — medici, biochimiști, geneticieni, citogeneticieni etc. Componenţa acestor echipe este condiţionată de natura problemelor studiate. În izolate se impune prezenţa neuropsihiatrului, a oftalmologului, adică a specialiștilor în acele domenii ale medicinei care

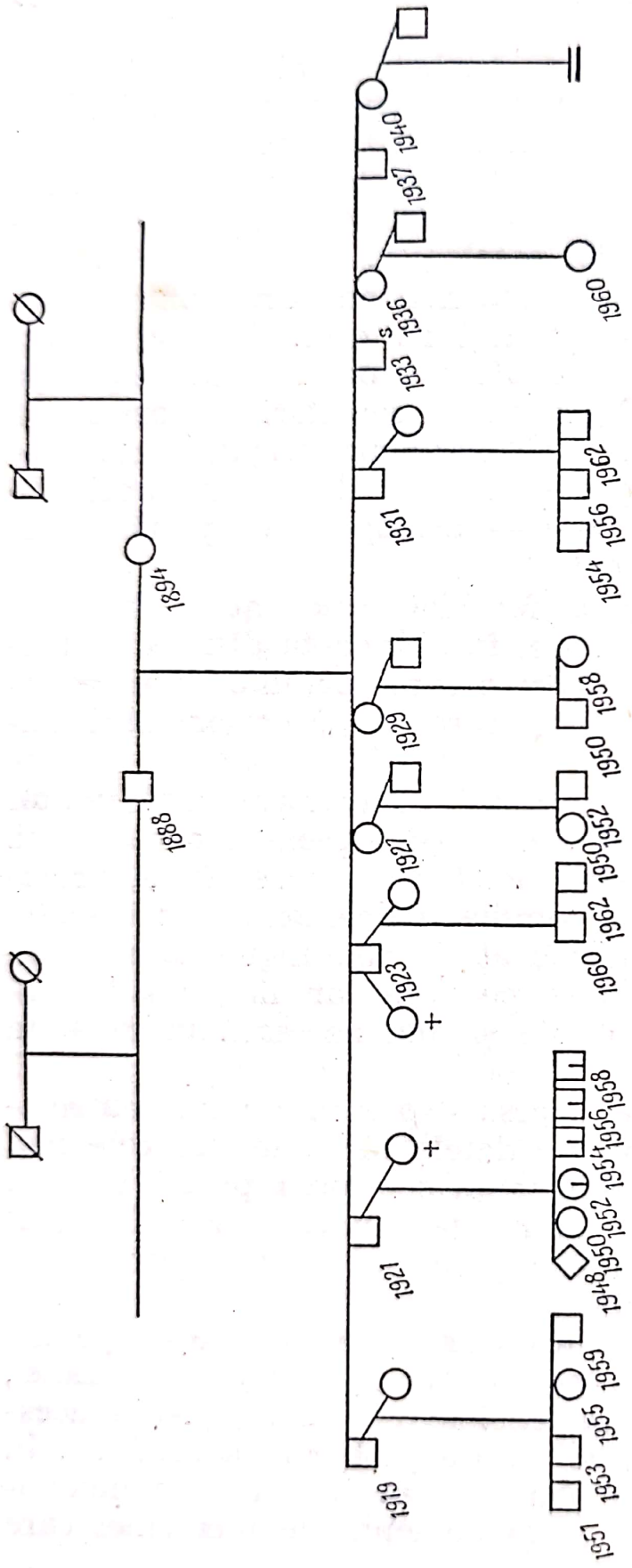
Scanned with OKEN Scanner

studiază bolile ce se întîlnesc frecvent în aceste regiuni.

De asemenea, în investigațiile de genetică medicală se face apel și la serologie. Ea va aduce precizări asupra frecvenței grupelor sanguine, a hemoglobinelor sau a haptoglobinelor și va preciza dacă există sau nu o asociere între gena pentru grupele sanguine și mutația studiată.

De un mare folos este studiul dermatoglifelor. Se știe de multă vreme că copiii cu sindrom Down au desene palmare cu totul particulare. Ulterior s-a constatat că și copiii cu trizomie 13—15, precum și femeile cu sindrom Turner au dermatoglife mai mult sau mai puțin particulare. Așadar, studiul lor are nu numai o importanță teoretică, ci și aplicații practice.

Reprezentarea grafică. Familia cercetată este reprezentată de obicei grafic sub



95. Model de arbore genealogic

Scanned with OKEN Scanner

forma unui arbore genealogic (pedigriu). Modelele grafice folosite în prezent sînt relativ puține (vezi fig. 95, 96). Se pleacă de la cazul descoperit, numit probant sau propositus, care se marchează cu un P sau cu o săgeată, apoi se caută un număr cît mai mare de ascendenți și de descendenți. Se stabilește astfel generația parentală (P) și generațiile filiale (F_1, F_2, F_3, ...). Se va acorda o mare importanță fratriilor, adică ansamblului de frați și de surori rezultați dintr-un cuplu dat.

În ipoteza că o persoană s-a căsătorit de mai multe ori se notează separat copiii rezultați din fiecare căsătorie. Se înregistrează, de asemenea, numărul de avorturi spontane și numărul de copii născuți morți. Aceste date permit stabilirea existenței unei eventuale gene letale.

În pedigriuri se marchează prezența tuturor tulburărilor descoperite, indiferent dacă acestea au sau nu vreo legătură cu anomaliile întîlnite la proband. Acest fapt este deosebit de important pentru cunoașterea tabloului patologic al familiei, dar mai ales pentru a pune în evidență manifestările parțiale ale sindromului întîlnit la proband. De pildă, în sindromul Lawrence-Moon, printre ascendenții sau colateralii afectaților se întîlnesc izolat retinită pigmentară, obezitate, întîrziere mintală sau polidactilie. Afectații prezintă un tablou clinic complex, care cuprinde toate aceste manifestări.

Pentru ca un arbore genealogic să fie cît mai ușor de urmărit se folosesc numeroase semne convenționale (vezi fig. 97).

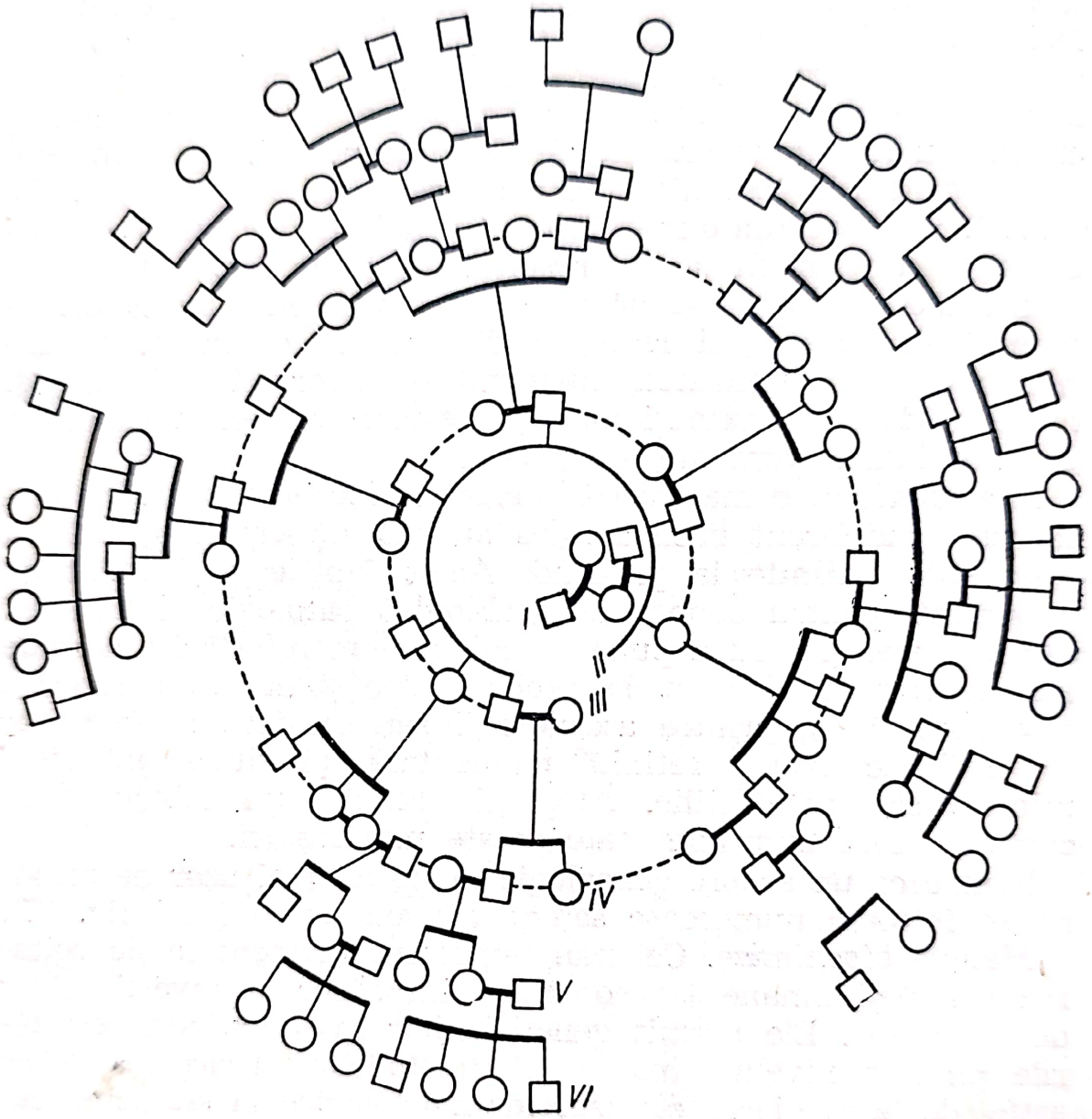
Metode biochimice. Cel mai important moment în dezvoltarea geneticii umane l-a constituit introducerea investigațiilor de biochimie. Ele permit geneticienilor să-și extindă cercetările pînă la niveluri inaccesibile metodelor clasice. Se trece astfel de la studierea caracterelor morfologice la studierea caracterelor biochimice, deci de la studiul trăsăturilor polimerice la studiul trăsăturilor monomerice.

Datorită cercetărilor de biochimie s-a putut trage concluzia că foarte multe boli care prezintă un tablou clinic complex sînt consecința mutației unei singure gene. Totodată, aceste cercetări au permis explicarea mecanismului de dominanță la nivel molecular.

Dar rezultatul cel mai valoros al cercetărilor de biochimie l-a constituit posibilitatea de a detecta heterozigoții pentru o

31—110

Scanned with OKEN Scanner



96. Model de arbore genealogic

genă recesivă. Descoperirea la părinţii copiilor cu o boală recesivă a unor tulburări specifice, deşi reduse, este o dovadă concludentă a originii ereditare a bolii.

Cu ajutorul testelor biochimice se pot descoperi şi multe erori înnăscute de metabolism. În ipoteza că aceste tulburări sînt răspîndite şi grave, că se cercetează fiecare nou-născut,

Scanned with OKEN Scanner

diagnosticul și apoi tratamentul pot fi începute cu mult înainte de apariția semnelor clinice.

Marea diversitate a reacțiilor individuale la medicamente a fost pusă în evidență tot cu ajutorul cercetărilor biochimice. Perspectivele farmacogeneticii medicale sînt uriașe. Ea va aduce o bază solidă pentru terapeutică. În locul schemelor actuale în care toți bolnavii primesc aproape întotdeauna aceeași doză terapeutică, se va ține seama de sensibilitatea bolnavului, de posibilitatea și de ritmul în care se gradează un medicament. Studiul sistemelor enzimatice care intervin în aceste procese va ușura înțelegerea mecanismelor adaptării, deoarece nu încape îndoială că diversitatea biochimică umană este rezultatul selecției naturale.

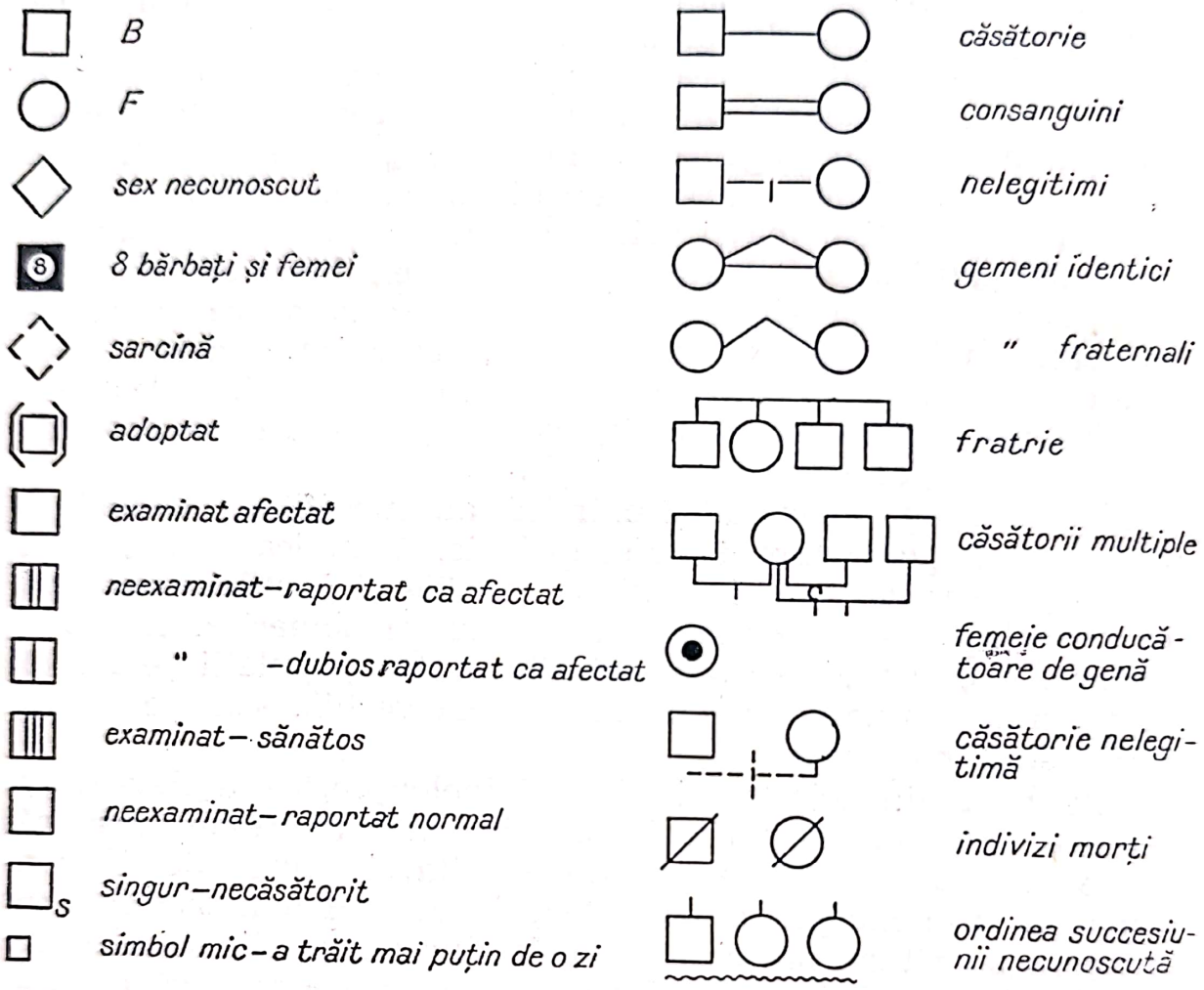
Metodele de genetică biochimică au modificat profund și metodele de cercetare în antropologie. Genetica populațiilor, preocupare nouă, care înlocuiește vechile și inutilele cercetări de raseologie, se bazează pe caractere monomerice. Astăzi a devenit o certitudine că deosebirile dintre populații se referă la un număr relativ mic de gene și că vechile scheme raseologice sînt anacronice.

Studiul aminoacizilor și al proteinelor serice a devenit o metodă larg folosită în antropologie. Este interesant însă că această metodă a început să fie folosită și pentru descifrarea evoluției. S-a început cu cercetarea secvenței aminoacizilor ce intră în structura proteinelor de la diverse specii. Rezultatele nu sînt încă suficient de clare. Se presupune însă că o dată cu îmbunătățirea posibilităților tehnice se va putea stabili gradul de apropiere dintre două specii și eventual momentul separării lor.

Metode citogenetice. Citogenetica este cea mai tînără ramură a geneticii. Ea și-a găsit locul îndeosebi printre metodele de investigație folosite de genetica medicală. Descoperirile citogenetice au produs o adevărată revoluție în medicină. S-a stabilit astfel că anomaliile cromozomiale sînt o realitate neîndoielnică și s-a admis existența și a altor fenomene genetice postulate pe baza unor observații indirecte.

Metodele de evidențiere a cariotipului au fost folosite și în genetica animală, permițînd astfel cunoașterea complementului cromozomial al multor specii animale. Cum era și de aș-

Scanned with OKEN Scanner



97. Simboluri folosite în genetică

teptat, speciile au un cariotip propriu, dar nu întotdeauna. Cu această rezervă, cariotipul a devenit un criteriu folosit în taxonomie. Dacă două forme animale care nu pot fi definite ca rase sau specii pe criterii obișnuite morfologice au cariotipuri deosebite, ele constituie cu certitudine două specii. De aci ideea că studiul cariotipului poate fi folosit și pentru descifrarea fenomenelor evolutive.

Astfel, studiul formei cromozomilor a confirmat ipotezele conform cărora maimuțele africane, îndeosebi cimpanzeul, sînt mult mai apropiate filetic de om decît maimuțele asiatice. În acest caz numărul de cromozomi nu are importanță, deoarece

este același (48) atît la gorilă și cimpanzeu, cît și la orangutan. Tot pe această cale s-a arătat că gibonul este mult mai îndepărtat filetic de om decît celelalte maimuțe (Klinger).

Metodele experimentale. Din considerente ușor de înțeles, metodele experimentale nu au fost și nu vor fi aplicate la om. Aceasta este una dintre cauzele care au stăvilit cunoașterea naturii factorilor mutageni și a diversității patologice. Din același motiv nu știm dacă factorii teratogeni întîlniți la animale sînt teratogeni și la om.

Cu toate acestea, în condițiile atît de variate ale lumii contemporane apar uneori premise aproape experimentale. Astfel, existența unui mare număr de indivizi iradiați medical sau profesional stabilește modelul experimental practicat la animale. De asemenea, cercetarea retrospectivă sau prospectivă a mamelor cu copii malformați a demonstrat, pe serii mari, influența teratogenă a rubeolei și a talidomidei.

Cu totul întîmplător se pot căsători uneori indivizi cu același caracter. Dacă acesta este patologic se va putea urmări cum se manifestă la generațiile următoare. Numai pe această cale s-a aflat, de pildă, că există uneori o diferență însemnată între expresia fenotipică a genelor dominante în doză simplă și în doză dublă.

Apropiate de modele experimentale sînt și populațiile care trăiesc în izolate. În acest caz endogamia și consanguinizarea sînt mult mai frecvente decît la populațiile exogame. Datorită acestor condiții, homozigoția crește, iar frecvența caracterelor se accentuează. Se observă astfel — firește, într-o proporție mult mai redusă — același fenomen care s-ar putea întîlni în liniile de animale intens consanguinizate.

Totuși rezultatele obținute cu ajutorul acestor metode sînt deseori insuficiente. De aceea, genetica este obligată să extrapoleze în domeniul uman concluziile cercetărilor experimentale, mai ales cînd se știe că procesele fundamentale ale eredității sînt comune întregii lumi organice. Modul de transmitere a caracterelor a fost descris de Mendel la plante, dar el se întîlnește și la animale, inclusiv la om.

Aceasta nu înseamnă că toate fenomenele întîlnite în cadrul unei specii pot fi generalizate, deoarece fiecare specie are propriile ei particularități genetice.

Scanned with OKEN Scanner

Metode statistice aplicate în genetica umană

Una dintre cele mai însemnate metode de cercetare în genetică este metoda statistică. Utilitatea ei a fost recunoscută încă de la primele lucrări care aveau drept scop cunoaşterea legilor după care se moştenesc diverse caractere. Se poate spune că metoda statistică a fost utilizată cu mult succes încă înainte de a fi apărut citogenetica sau genetica moleculară.

De pildă, legile lui Mendel au fost deduse statistic. De asemenea, orice tip de transmitere ereditară a unui caracter se realizează cu o probabilitate oarecare pentru un individ anumit, sau pentru un anumit grup de indivizi, acest tip de transmitere ereditară căpătînd valoare de lege numai în raport cu o populaţie mare. Cu alte cuvinte, pentru a stabili în mod cert dacă un anumit caracter este sau nu ereditar, este necesară în primul rînd investigarea unui număr cît mai mare de cazuri şi, în al doilea rînd, prelucrarea statistică a acestor date.

Remarcăm încă de la început cîteva condiţii indispensabile obţinerii unor rezultate corecte. Una dintre acestea este că operaţia de culegere şi sistematizare a datelor iniţiale trebuie făcută cu o deosebită conştiinciozitate. Omiterea unor informaţii, ca, de pildă, consanguinitatea părinţilor, stabilirea faptului dacă gemenii sînt univitelini sau bivitelini şi altele, deformează cu totul concluzia desprinsă, chiar dacă prelucrarea statistică a fost făcută cu mare exactitate.

Confundarea unor afecţiuni diferite, dar care au o simptomatologie similară, cu o boală unică, cum ar fi hemofilia, poate duce de asemenea la rezultate eronate.

Cunoaşterea factorilor de mediu care au favorizat anumite afecţiuni genetice, cum ar fi sensibilitatea la anumite droguri, sau care, dimpotrivă, au mascat anumite disfuncţii ereditare este de asemenea de un real folos pentru cercetările de genetică umană.

Testul χ^2. Pentru a stabili dacă un anumit rezultat obţinut în cursul investigaţiilor este sau nu semnificativ, există mai multe metode. Una dintre ele este testul χ^2 sau testul Pearson.

Scanned with OKEN Scanner

Cu ajutorul acestui test putem stabili ce șanse există ca rezultatul nostru să fi apărut din întîmplare sau, dimpotrivă, să fi luat naștere conform unei legi bine determinate. Testul X^2 nu poate fi aplicat la variabile continue.

Vom lua ca exemplu cazul în care o monedă este aruncată în sus de 20 de ori. Din aceste 20 de aruncări, moneda a căzut de 5 ori cu capul în sus și de 15 ori cu stema în sus. Știind că moneda nu putea să cadă decît cu capul sau cu stema și că ambele posibilități erau în mod egal probabile, ne-am fi așteptat ca din 20 de aruncări moneda să cadă de 10 ori cu capul în sus și de 10 ori cu stema. Se pune problema dacă rezultatul găsit este întîmplător sau, dimpotrivă, el poate fi atribuit unei monede false. Pentru a răspunde la această întrebare adoptăm „metoda ipotezei-nul", adică considerăm de la început că moneda nu este falsă și că rezultatul obținut este întîmplător.

Dacă nu va exista o diferență semnificativă între ceea ce s-a observat și rezultatul la care ne așteptam, ipoteza-nul va fi demonstrată ca adevărată și rezultatul va fi atribuit întîmplării.

Dacă însă diferența între rezultatul observat și cel așteptat este prea mare pentru a fi atribuită întîmplării, atunci ipoteza-nul se va dovedi infirmată și vom atribui rezultatul obținut unei cauze oarecare, de exemplu, unei monede false.

Testul χ^2 este în măsură să ne arate care este probabilitatea ca diferența dintre rezultatul observat și cel prevăzut să fi apărut întîmplător. El se calculează în felul următor:

1. Pentru fiecare caz pe care l-am luat în considerare scădem rezultatul la care ne așteptăm din rezultatul observat în realitate.
2. Diferența obținută se ridică la pătrat.
3. Valoarea obținută se împarte la valoarea așteptată.
4. Rezultatele obținute pentru fiecare caz în parte se însumează, obținîndu-se astfel valoarea lui χ^2.

În situația monedei de mai sus, ea va fi:

$$\chi^2 = \frac{(5-10)^2}{10} + \frac{(15-10)^2}{10} = \frac{(-5)^2}{10} + \frac{5^2}{10} = \frac{25}{10} + \frac{25}{10} = \frac{50}{10} = 5.$$

Scanned with OKEN Scanner

Generalizînd formula testului χ^2, valoarea acestuia se va calcula astfel:

$$\chi^2 = \frac{(O_1 - A_1)^2}{A_1} + \frac{(O_2 - A_2)^2}{A_2} + \ldots + \frac{(O_i - A_i)^2}{A_i}$$

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - A)^2}{A},$$

unde O este valoarea observată, iar A — valoarea așteptată.

Pentru a ne da seama însă de semnificația valorii 5 obținute de noi pentru χ^2, trebuie să cunoaștem numărul gradelor de libertate din exemplul nostru. Prin *grade de libertate* se înțelege numărul de clase a căror frecvență poate fi desemnată arbitrar. Astfel, în exemplul monedei vom putea desemna arbitrar frecvența unei singure clase, cea de-a doua fiind în mod obligatoriu reprezentată de diferența dintre numărul total al aruncărilor și numărul atribuit arbitrar primei clase.

Așadar, numărul gradelor de libertate va fi egal cu 1. În general dacă se consideră că N este numărul gradelor de libertate și n — numărul cazurilor luate în considerare, obținem relația:

$$N = n - 1.$$

Știind acum că numărul gradelor de libertate este 1 și că $\chi^2 = 5$, vom găsi în tabele speciale probabilitatea $p = 0{,}02$ sau, cu alte cuvinte, $p = \frac{2}{100}$; rezultă deci că există numai două șanse din o sută ca rezultatul să fi apărut datorită întîmplării.

În statistică, se consideră de obicei că o probabilitate devine semnificativă numai atunci cînd atinge așa-numitul nivel de 5%. Or, probabilitatea ca rezultatul obținut în cazul monedei să fi fost întîmplător este sub nivelul de 5% și deci sîntem nevoiți să respingem ipoteza-nul și să considerăm că moneda a fost falsă. Ipoteza — nul va fi categoric respinsă numai sub nivelul de 1%.

Ca regulă generală, cu cît numărul gradelor de libertate va crește mai mult, cu atît mai mare trebuie să fie valoarea lui X^2, pentru a putea respinge ipoteza-nul. Invers, pentru un

număr de grade de libertate constant, cu cît valoarea χ^2 este mai mare, cu atît mai mică va fi probabilitatea găsită pentru el.

Să luăm acum un exemplu din domeniul de care ne ocupăm, citat în lucrările lui Clarke. Să presupunem că dorim să aflăm dacă ulcerul duodenal este asociat cu vreun marker genetic, de pildă, cu grupele sanguine. Vom presupune că avem 100 de bolnavi cu ulcer duodenal și 200 de persoane sănătoase luate drept martor. În acest caz, conform ipotezei-nul, distribuția grupelor sanguine la bolnavii cu ulcer duodenal nu se va deosebi de distribuția acestor grupe la indivizii sănătoși. Deci, între boala cercetată și grupele sanguine nu există nici o legătură.

Înscriem datele obținute într-un tabel ca cel de mai jos, denumit tabel de contingență.

MODEL DE INTOCMIRE A TABELULUI DE CONTINGENȚĂ

	Grupuri sanguine			Total
	O	A	B + AB*	
Bolnavi cu ulcer duodenal	$66_{(56)}$	$24_{(36)}$	$10_{(8)}$	100
Sănătoşi (control)	$102_{(112)}$	$84_{(72)}$	$14_{(16)}$	200
Total	168	108	24	300

* Grupurile sanguine B şi AB au fost trecute împreună pentru că frecvențele așteptate ale lui AB sînt mai mici de 5.

Din acest tabel aflăm frecvența observată, dar pentru a calcula valoarea lui χ^2 trebuie să calculăm frecvența așteptată. Aceasta se realizează în felul următor:

1. Probabilitatea ca un individ, indiferent de grupa lui sanguină, să fie bolnav de ulcer este de $\frac{100}{300}$.

2. Probabilitatea ca un individ, indiferent dacă e bolnav sau sănătos, să fie de grup sanguin O este de $\frac{168}{300}$.

Scanned with OKEN Scanner

3. Probabilitatea ca un individ bolnav de ulcer să aibă în acelaşi timp şi grupa O este egală cu produsul primelor două probabilităţi, adică cu $\frac{168}{300} \times \frac{100}{300}$.

4. Pentru a transforma această valoare într-o frecvenţă o înmulţim cu totalul indivizilor luaţi în studiu:

$$\frac{168}{300} \times \frac{100}{300} \times 300.$$

Prin generalizare, formula care ne permite să obţinem frecvenţa aşteptată într-un tabel de contingenţă este:

$$A = \frac{P}{N} \times \frac{x}{N} \times N = \frac{P \cdot x}{N}$$

unde A este frecvenţa aşteptată; P — totalul rîndului; x — totalul coloanei; N — numărul total al indivizilor investigaţi.

Frecvenţele aşteptate au fost trecute, pentru fiecare caz în parte, între paranteze.

Formula de calcul a lui χ^2 este aceeaşi, reprezentînd suma valorii $\frac{(O-A)^2}{A}$ pentru fiecare clasă considerată. De exemplu, pentru prima rubrică de sus şi din stînga această valoare este:

$$\frac{(66-56)^2}{56} = \frac{100}{56} = 1{,}78.$$

Aşadar, valoarea lui χ^2 este 9,43.

Numărul gradelor de libertate dintr-un tabel de contingenţă este $(r-1)(c-1)$, unde r este numărul rîndurilor şi c — numărul coloanelor. În exemplul considerat, el este egal cu (2—1) (3—1) = 2.

La $\chi^2 = 9{,}21$ (valoarea cea mai apropiată de 9,43), pentru două grade de libertate probabilitatea p este de 0,01. Dat fiind că nivelul respectiv se află mult sub nivelul de 5%, sîntem nevoiţi să respingem ipoteza-nul şi să considerăm că există o asociaţie între ulcerul duodenal şi grupele sanguine.

Dăm mai jos o metodă mai simplă de calcul a testului χ^2, bazată pe corecţia lui Yates, care se poate aplica în cazurile în

Scanned with OKEN Scanner

care există numai două clase și valoarea așteptată este aceeași pentru ambele, cum ar fi cazul monedei sau verificarea rezultatelor unei încrucișări reverse.

Dacă la 50 de aruncări banul cade de 30 de ori pe o parte și de 20 de ori pe partea cealaltă, facem diferența 30—20 = 10 și scădem 1. Ridicăm apoi la pătrat cifra obținută ($9^2 = 81$) și o împărțim cu numărul total de aruncări ($81 : 50 = 1{,}62$). Deci valoarea lui X^2 este egală cu 1,62. Fără a căuta în tabel probabilitatea, considerăm că pentru cifre sub 4, ca în cazul nostru, diferența observată se datorește probabil întîmplării. Cu oarecare precauție considerăm că diferența observată între 4 și 7 nu se datorește întîmplării, iar pentru valori mai mari ca 7 socotim că rezultatul nu este întîmplător.

Penetranța. Prin penetranță *(penetrance)* se înțelege frecvența cu care se manifestă un anumit caracter fenotipic într-o populație alcătuită din indivizi care posedă gena ce controlează acest caracter.

Ea poate fi de două feluri: completă și incompletă. Considerăm că o genă dominantă are o penetranță completă atunci cînd caracterul pe care-l controlează este întotdeauna manifest la un individ purtător al acestei gene. O genă recesivă are o penetranță completă în cazul cînd caracterul controlat de ea este întotdeauna evident la indivizii homozigoți pentru această genă.

În sfîrșit, considerăm că o genă are o penetranță incompletă atunci cînd nu toți indivizii care poartă această genă manifestă caracterul controlat de ea. De pildă, dacă diabetul zaharat este controlat de o genă recesivă, ne-am aștepta ca toți copiii născuți din părinți diabetici (fiind homozigoți) să aibă întotdeauna diabet. Totuși, se constată adesea abateri de la această regulă, de unde concluzia că gena recesivă ce controlează apariția diabetului are o penetranță incompletă.

Pentru a calcula valoarea penetranței unei gene se stabilește procentul de indivizi care manifestă un anumit caracter fenotipic din totalul de indivizi ce poartă gena responsabilă de acest caracter. Dăm ca exemplu, după Clarke, calculul gradului de penetranță în cazul diabetului. Au fost studiate familii la care ambii părinți sufereau de această boală. Datele observate au fost inserate într-un tabel. Apoi s-a calculat gradul

Scanned with OKEN Scanner

de penetranță, folosindu-se regula de trei simplă. De pildă, dacă din 74 de purtători ai genei, 16 sînt afectați, atunci gradul de penetranță va fi:

$$x = \frac{100 \times 16}{74} = 21,6\%.$$

Stabilirea tipului de transmitere a unui caracter ereditar

Tipul de transmitere a unui caracter ereditar trebuie cercetat întotdeauna prin metode statistice, deoarece există o serie de factori care determină abaterea rezultatelor obținute în cursul observațiilor de la rezultatele teoretice, care ne permit identificarea unui tip de ereditate oarecare.

Astfel, familiile studiate sînt relativ mici, procentul membrilor afectați poate diferi de la o familie la alta, anumite afecțiuni se manifestă mai tîrziu în viață și deci nu pot fi înregistrate la copii etc.

În general, este necesar ca pentru fiecare familie luată în considerare să cunoaștem pedigriul a cel puțin trei generații succesive. Dacă trăsătura pe care o urmărim este transmisă dominant autozomal sau dominant legată de sex, atunci va trebui să existe un anumit raport numeric între descendenții care prezintă acest caracter și descendenții care nu-l au. Uneori însă există abateri de la acest raport.

Pentru a verifica dacă abaterile de la rezultatele scontate se datoresc unei alte cauze decît întîmplării, folosim metoda testului χ^2.

Caracter autozomal recesiv

Dacă se încrucișează doi purtători de gene recesive DR×DR, raportul așteptat de segregare printre progenituri este 1 : 3. Cu alte cuvinte, 25% din totalul descendenților vor manifesta caracterul fenotipic controlat de gena recesivă.

Totuși, în cursul observațiilor, raporturile găsite sînt practic întotdeauna mai mari. Iată de ce s-au propus o serie de metode corective care duc la obținerea unui raport mai exact.

Metoda lui Weinberg. În literatura engleză această metodă mai poartă denumirea de *sibling method* sau *propositus method.*

Scanned with OKEN Scanner

Raportul de segregare corectat (recesiv — dominanți) se calculează după formula:

$$P = \frac{\Sigma\, x\,(x-1)}{\Sigma\, x\,(n-1)} \cdot 100,$$

unde P este proporția corectă a homozigoților recesivi; x — numărul de copii dintr-o familie care manifestă caracterul recesiv; n — numărul total de copii dintr-o familie.

Semnul Σ arată că trebuie însumate rezultatele obținute pentru fiecare familie în parte (vezi tabelul de la p. 484).

Metoda lui Just. După Just, raportul de segregare corectat se calculează din formula:

$$P = \frac{\Sigma\,(x-1)}{\Sigma\,(n-1)} \cdot 100.$$

Metoda lui Just este mai puțin exactă decît metoda lui Weinberg și dă întotdeauna rezultate mai mici (vezi tabelul de la p. 485).

Metoda lui Hogben este denumită apriori prin faptul că în formula ei figurează raportul de segregare presupus a fi 3 : 1. În acest caz proporția segreganților (P) se calculează după formula:

$$P = \frac{x \cdot 100}{\left(\frac{ns}{1-q^n}\right)},$$

unde x este numărul de copii ce manifestă caracterul recesiv, n — numărul de copii, s — numărul de familii luate în studiu, și $q = 0{,}75 = {}^3/_4$.

După o serie de transformări, formula devine:

$$P = \frac{x \cdot 100 \cdot (4^n - 3^n)}{n \cdot s \cdot 4^n}.$$

Pentru a calcula formula respectivă se face un tabel în care se înscriu toate familiile cercetate, în funcție de numărul copiilor lor. Vom avea deci, de pildă, $s = 8$ familii cu cîte 1 copil; $s = 13$ familii cu cîte 2 copii, . . . , $s = 2$ familii cu cîte 10 copii etc. (vezi tabelul de la p. 486).

Scanned with OKEN Scanner

CALCULUL RAPORTULUI DE SEGREGARE A DESCENDENȚILOR DUPĂ METODA LUI WEINBERG PENTRU O SERIE DE CAZURI DE CATARACTE RECESIVE CONGENITALE (DUPĂ SAEBØ, 1949, CITAT DE WARDENBURG, FRANCESCHETTI ȘI KLEIN)

Nr. crt.	Nr. de copii în familie (n)	Nr. de copii cu cataracte (x)	Metoda Weinberg	
			$x(n-1)$	$x(x-1)$
1	3	2	4	2
2	2	1	1	0
3	4	2	6	2
4	2	1	1	0
5	1	1	0	0
6	3	2	4	2
7	9	2	16	2
8	5	1	4	0
9	3	1	2	0
10	1	1	0	0
11	2	1	1	0
12	11	4	40	12
13	4	2	6	2
14	8	1	7	0
15	5	1	4	0
16	2	2	2	2
17	5	2	8	2
Total	70	27	106	26

$$P = \frac{\Sigma x(x-1)}{\Sigma x(n-1)} \times 100 = \frac{26}{106} \times 100 = 24{,}5\ \%\ .$$

CALCULUL RAPORTULUI DE SEGREGARE A DESCENDENȚILOR DUPĂ METODA LUI JUST PENTRU O SERIE DE CAZURI CU HIDROFTALMIE (DUPĂ DELMARCELLE, 1957, CITAT DE WARDENBURG ȘI COLAB.)

Familia nr.	Nr. (x) de indivizi afectați	Nr. total (n) de frați — surori	$n-1$	$x-1$
2	3	3	2	2
4	1	5	4	0
6	2	2	1	1
7	2	5	4	1
8	1	3	2	0
9	1	3	2	0
10	1	7	6	0
11	3	12	11	2
13	1	4	3	0
14	1	2	1	0
16	2	5	4	1
17	1	2	1	0
18	3	6	5	2
21	2	3	2	1
22	1	2	1	0
23	1	1	0	0
Total	26	65	49	10

$$P = \frac{\Sigma\,(x-1)}{\Sigma\,(n-1)} \cdot 100 = \frac{10}{49} \cdot 100 = 20{,}4\,\% \ .$$

CALCULUL RAPORTULUI DE SEGREGARE A DESCENDENȚILOR DUPĂ METODA LUI HOBGEN, PENTRU O SERIE DE CAZURI DE SINDROM BORDET-BIEDL (DUPĂ STREIFF ȘI ZELTNER, CITAȚI DE WARDENBURG, FRANCESCHETTI ȘI KLEIN)

s	n	$n \cdot s$	x	$\frac{x \cdot 100 \cdot (4^n - 3^n)}{n \cdot s \cdot 4^n}$
8	1	8	8	25,0
13	2	26	18	30,3
13	3	39	23	34,1
12	4	48	19	27,1
9	5	45	13	22,0
12	6	72	33	37,7
6	7	42	10	20,8
5	8	40	14	31,5
4	9	36	7	17,9
2	10	20	8	37,7
1	11	11	3	26,1
3	13	39	7	17,5
$\sum s = 88$		$\sum (n \cdot s) = 426$	$\sum x = 163$	327,7

$$P = \frac{\sum \left\{ \frac{x \cdot 100 \cdot (4^n - 3^n)}{n \cdot s \cdot 4^n} \right\}}{\text{Numărul de grupuri de familie}} = \frac{327,7}{12} = 27,3\ \%.$$

Caractere recesive legate de x. În cazurile încrucișărilor de tipul $yx \times Xx$, unde x este caracterul recesiv, raportul de segregare așteptat printre descendenți va fi 1 : 1. Același raport se constată și atunci cînd se iau în considerare doar descendenții de sex masculin sau cei de sex feminin. Semnificația abaterilor constatate pentru rezultatele observate va fi testată prin metoda χ^2.

În cazurile încrucișărilor de tipul $yX \times xx$, caracterul controlat de gena recesivă va fi manifest numai la descendenții de sex masculin.

Capacitatea de adaptare biologică (biological fitness), cunoscută și sub numele de capacitate de adaptare reproductivă, reprezintă posibilitatea unui individ de a transmite generațiilor următoare mulțimea genelor primite de la antecesori.

Anumite alele mutante determină boli care duc la o creștere a mortalității precoce. În aceste cazuri alelele mutante au o șansă foarte redusă de a fi regăsite într-o populație după cîteva generații, dacă între timp pierderea lor nu este compensată prin noi mutații. Iată de ce capacitatea de adaptare biologică este foarte importantă pentru calculul ratei de mutație.

Valoarea capacității de adaptare biologică a unui individ se exprimă prin numărul descendenților lui care ating maturitatea.

Pentru soț și soție această valoare se consideră a fi egală cu 1 în cazul în care aceștia produc doi copii care ating vîrsta de reproducere (maturitatea). Astfel, frecvența unei gene oarecare va rămîne constantă în populație.

Capacitatea de adaptare biologică (F) pentru o alelă mutantă oarecare se va calcula din raportul:

$$F = \frac{\text{nr. de alele mutante transmise de la o generație la alta}}{\text{nr. de alele normale transmise de la o generație la alta}} = \frac{\dfrac{\text{nr. de alele mutante ale copiilor}}{\text{nr. de alele mutante ale părinților}}}{\dfrac{\text{nr. de alele normale ale copiilor}}{\text{nr. de alele normale ale părinților}}}.$$

Acest raport ne arată de cîte ori mai puține (sau mai multe) alele mutante sînt transmise de la o generație la alta, în comparație cu alelele normale.

Pentru exemplificare, citățm studiul devenit clasic al lui Mørch, care a cercetat capacitatea de adaptare biologică pentru acondroplazie.

Datele problemei sînt următoarele:

Într-o populație de 3 250 000 de oameni s-au găsit 108 acondroplazici. Aceștia au produs 27 de descendenți, în timp ce cei 457 de frați și surori neafectate ale acestora au avut 582 de descendenți. Se știe că toți acondroplazicii sînt heterozigoți (homozigotul este probabil letal) și că toți descendenții lor provin din încrucișarea unui bărbat afectat cu o femeie normală (femeia acondroplazică nu produce practic niciodată descendenți viabili).

Deci raportul $\frac{\text{descendenți normali}}{\text{descendenți bolnavi}} = \frac{1}{1}$.

Prin urmare, din 27 de copii născuți din părinți acondroplazici, aproximativ 13,5 vor fi normali, iar 13,5 bolnavi vor prezenta o alelă mutantă.

Pe de altă parte, se știe că 457 de frați și surori sănătoase au avut 582 de copii normali. Pentru a calcula numărul de alele normale transmise de la o generație la alta trebuie să înmulțim numărul fraților și surorilor cu 2, deoarece se iau în considerație și soții sau soțiile lor. În acest caz, atît copiii, cît și părinții sînt purtători ai alelei normale în doză dublă.

Calculînd capacitatea de adaptare biologică vom găsi că:

$$F = \frac{\text{13,5 alele mutante transmise copiilor afectați}}{\dfrac{\text{108 alele mutante purtate de părinții afectați}}{\dfrac{\text{(582 × 2) alele normale transmise copiilor normali}}{\text{(457 × 2 × 2) alele normale purtate de părinți normali}}}}$$

Deci,

$$F = \frac{\frac{13,5}{108}}{\frac{585 \cdot 2}{457 \cdot 2 \cdot 2}} = \frac{\frac{13,5}{108}}{\frac{582}{914}} = \frac{0,125}{0,6368} = 0,1963 = 19,6\,\%.$$

Aceasta înseamnă că din 100 de alele anormale, doar 19 vor trece la generaţia următoare, restul fiind eliminate.

Frecvenţa unui caracter ereditar într-o populaţie dată (f) se calculează după formula:

$$f = \frac{n}{N},$$

unde n este numărul de indivizi ce manifestă caracterul ereditar, iar N — numărul total de indivizi luaţi în consideraţie.

Pentru anumite boli genetice care duc la o mortalitate infantilă mare, este preferabil ca investigaţia să fie făcută în populaţii de nou-născuţi sau de copii cît mai mici.

Calculul ratei de mutaţie. Pentru caractere autozomale dominante putem folosi metoda directă, cît şi una dintre metodele indirecte. Pentru ilustrarea metodei directe expunem studiul lui Mørch, care a calculat rata de mutaţie pentru acondroplazie. Acest autor a cercetat 96 000 de nou-născuţi, semnalînd printre ei 10 acondroplazici. Dintre aceştia, 8 erau născuţi din părinţi sănătoşi, deci suferiseră mutaţia genei respective.

Prin urmare, vom găsi următorul raport:

$$\frac{\text{8 bolnavi prin mutaţie (heterozigoţi)}}{\text{96 000 de copii normali}} = \frac{\text{1 bolnav prin mutaţie}}{\text{12 000 de indivizi normali}}$$

$$\text{adică } \frac{\text{1 alelă mutantă}}{\text{24 000 de alele normale}}$$

Aşadar, rata de mutaţie este de circa $4,2 \cdot 10^{-5}$.

Metoda indirectă utilizează formula:

$$M = \frac{1}{2} f (1 - F)$$

unde M este rata de mutație, f — frecvența afecțiunii și F — capacitatea de adaptare biologică.

De exemplu, se știe că în acondroplazie $F = 0{,}196$, iar $f = \frac{10}{96\,000}$. Înlocuind, vom găsi că $M = 4{,}3 \cdot 10^{-5}$.

Pentru caractere autozomale recesive putem folosi doar metoda indirectă, care utilizează formula:

$$M = f(1-F).$$

Astfel, pentru fenilketonurie (după Penrose) $f = 1/40\,000$ și $F = 0$, deci $M = 2{,}5 \cdot 10^{-5}$.

Determinarea ratei de mutație în cazul unor gene recesive este totuși o problemă foarte dificilă și rezultatele obținute au mari șanse de a nu fi exacte. Aceasta pentru că determinarea capacității de adaptare biologică a heterozigoților este imposibilă, pe de o parte, iar pe de altă parte, în cazul unui individ homozigot, care manifestă caracterul recesiv și ai cărui părinți sînt heterozigoți, este greu de decis dacă dubla doză a genei respective a apărut la copil prin mutația genei dominante sau prin segregare.

Pentru caractere ereditare legate de sex rata de mutație se calculează prin metoda indirectă, folosindu-se formula:

$$M = \frac{1}{3} f(1-F).$$

Astfel, de exemplu, în cazul hemofiliei, după Kemp (1951), $f = 0{,}000133$, iar $F = 0{,}3$. Deci, $M =$ circa $3 \cdot 10^{-5}$.

În cazurile în care se determină rata de mutație pentru o afecțiune recesivă legată de sex, pot apărea erori datorită faptului că este imposibilă calcularea capacității de adaptare biologică a femeilor.

Scanned with OKEN Scanner

Redactor resp. de carte: LIA HODOROGEA
Tehnoredactor: Gheorghe Popovici

Dat la cules: 10.03.1966. Bun de tipar: 13.06.1966. Tiraj: 3000 ex. legate 1/1. Hîrtie: scris I. A. 80 g/m². Format: 61×86/16. Coli editoriale: 26,91. Coli de tipar: 30,75+1 planșă. A.: 789. Indici de clasificare zecimală: pentru bibliotecile mari 575.1, pentru bibliotecile mici 57.

Tiparul executat sub comanda nr. 271/1966, la Întreprinderea Poligrafică Cluj, str. Brassai nr. 5—7, Cluj — Republica Socialistă România

Scanned with OKEN Scanner

Lucrări apărute în Editura Ştiinţifică

C.S. ANTONESCU

Mamifere din mări şi oceane

165 p. – 4,75 lei br.

SOLOVIEV I. I.

Un fondator al chimiei moderne – Iacob Berzilius

158 p. – 2,5 lei br.

KÁSZONY ZOLTÁN

Acvaristica şi pescuitul sportiv

342 p. – 13,00 lei br. – 15,50 lei lg.

POP IONEL

Instantanee din viaţa animalelor

363 p. 9,00 lei br.

CHIRIAC M. UDRESCU E.

Ghidul naturalistului în lumea apelor dulci

336 p. – 11,50 lei.

MILCU ŞT. şi LUNGU ALEXANDRU

Hormonii şi viaţa

400 p. – 18,50 lei

SĂHLEANU V. Dr.

Chimia, fizica şi matematica vieţii

440 pg. – 16,50 lei br.

Scanned with OKEN Scanner